

UNIVERSITÉ DE PARIS
FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1928-1929

N° 22

DOSAGES CHIMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES
DES PRÉPARATIONS D'ACONIT

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le 27 Novembre 1929

PAR

Andrée MALMANCHE

Lauréate de la Faculté de Pharmacie

JURY { MM. GORIS, *Président.*
PERROT, *Professeur.*
MASCRÉ, *Agrégé.*

SAINT-CLOUD
IMPRIMERIE GIRAULT

3, Place de l'Eglise

1929

UNIVERSITÉ DE PARIS
FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1928-1929

N° 22

DOSAGES CHIMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES
DES PRÉPARATIONS D'ACONIT

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

présentée et soutenue le 27 Novembre 1929

PAR

Andrée MALMANCHE

Lauréate de la Faculté de Pharmacie

JURY { MM. GORIS, *Président.*
PERROT, *Professeur.*
MASCRÉ, *Agrégé.*

SAINT-CLOUD

IMPRIMERIE GIRAULT

3, Place de l'Eglise

1929



PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, *Doyen*, O. ✱, ☉ I.
PERROT, *Assesseur*, O. ✱, ☉ I.
G. DURSENT, *Secrétaire*, ✱, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. RADAIS, O. ✱, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, G. O. ✱, ☉ I.	Chimie organique.
PERROT, O. ✱, ☉ I.	Hist. naturelle des médicaments.
COUTIÈRE, O. ✱, ☉ I.	Zoologie.
GRIMBERT, ✱, ☉ I.	Chimie biologique.
LEBEAU, O. ✱, ☉ I.	Pharmacie chimique.
DELÉPINE, O. ✱, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, ✱, ☉ I.	Toxicologie.
BOUGAULT, ✱, ☉ I.	Chimie analytique.
GORIS, ✱, ☉ I.	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, ✱, ☉ I.	Botanique générale.
TASSILLY, ✱, ☉ I.	Physique.
DAMIENS, ✱, ☉ I.	Chimie minérale.

Professeur honoraire : M. A. VILLIERS, ✱, ☉ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. N.	Minéralogie.
Marc HONNORAT, ✱, ☉ I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, ✱, ☉ I.	Cryptogamie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, ✱, ☉ I.	MM. PICON, ☉ I.
LUTZ, ✱, ☉ I.	FABRE, ☉ A.
LAUNOY, ✱, ☉ I.	MASCRÉ, ☉ I.
HÉRISSEY, O. ✱, ☉ I.	FLEURY, ☉ I.
DELABY, ✱, ☉ A.	BACH, ☉ I.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, ✱, ☉ I.	Chimie générale.
SOMMELET, ✱, ☉ I., FABRE, ☉ A. : <i>agregés</i> , chargés des travaux de	Chimie analytique.
SOUÈGES, ☉ I.	Micrographie.
LEROUX, ☉ I.	Physique.
DEVAL, ☉ I.	Microbiologie
HÉRISSEY, O. ✱, ☉ I., DELABY, ✱, ☉ A., et PICON, ☉ I. : <i>agregés</i> , chargés des travaux généraux de 4 ^e année.	

Bibliothécaire en Chef : M. BEAULIEUX, ☉ I.

A MON BON MAÎTRE,
MON MEILLEUR AMI,
MON MARI,

MONSIEUR A.L. MALMANCHE

PHARMACIEN DE PREMIÈRE CLASSE

DOCTEUR ÈS-SCIENCES

*En témoignage d'admiration
et de reconnaissance infinie.*

A MON MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GORIS,
DIRECTEUR DE LA PHARMACIE CENTRALE DES HÔPITAUX
ET HOSPICES CIVILS,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR,

Hommage de respectueuse reconnaissance.

A MES PARENTS

MEIS ET AMICIS

INTRODUCTION

De toutes les préparations galéniques végétales inscrites au Codex, celles d'Aconit sont parmi les plus actives et les plus employées.

Avant 1908, on les préparait suivant une technique indiquée par la Pharmacopée, mais sans se préoccuper ni de la valeur de la matière première employée, ni de celle du produit obtenu. Ces préparations, livrées au commerce sans dosage préalable, donnèrent suivant les cas des résultats si discordants que l'on mit en doute leur valeur thérapeutique; aussi furent-elles abandonnées par de nombreux médecins et rayées de bien des Pharmacopées modernes.

La Conférence internationale de Bruxelles de 1902 pensa remédier à cet inconvénient en recommandant l'emploi exclusif du tubercule de l'année pour la préparation d'une teinture au 1/10 avec de l'alcool à 70c, et elle exigea un titre de 0,50 ‰ en alcaloïdes totaux. La Pharmacopée française de 1908 adopta cette décision, en fixant le titre de l'extrait mou alcoolique à 1 ‰, et, dans le supplément de 1926, celui de l'alcoolature à 0,10 ‰.

Mais, lorsqu'il s'agit d'une drogue renfermant des alcaloïdes de formules complexes encore peu connues, dont les propriétés physiologiques sont différentes et même parfois antagonistes, on conçoit aisément qu'un titre en alcaloïdes totaux ne puisse donner entière satisfaction : cet ensemble alcaloïdique étant très différent de la valeur toxique correspondant à l'Aconitine seule.

Ces divergences d'activité en fonction de l'âge et de l'origine des tubercules, signalées par SQUIBB, DUQUESNEL,

LABORDE, HOLMES, VON SCHROFF, SQUIRE, ECALLE, CHEVALIER, BURMANN, furent étudiées systématiquement par GORIS et MÉTIN sur des Aconits provenant, les uns des Pyrénées, les autres des marais de l'Aisne. Ces travaux montrent combien il faut être prudent quant au choix d'une matière première dont la toxicité peut varier dans de grandes proportions et qui paraît si étroitement liée à l'habitat.

Si des Aconits récoltés dans les diverses régions d'un même pays révèlent des activités si différentes, les mêmes faits ne peuvent-ils se reproduire pour un même tubercule aux stades successifs de son développement ? L'époque de l'arrachage, l'emploi du tubercule florifère ou du tubercule de remplacement, ne seront-ils pas aussi des points utiles à préciser pour l'obtention de bonnes préparations ?

De plus, la diminution d'activité des solutions d'Aconitine constatée d'abord par SWANSON, puis par GORIS et MÉTIN, ne peut-elle se produire également avec les préparations d'Aconit de notre Pharmacopée ?

Enfin, si l'Aconitine est si sensible aux agents d'hydrolyse, comment se comportera-t-elle au cours de la dessiccation de la racine, ou lors de la fabrication d'un extrait, ou durant les différentes phases d'une préparation galénique quelconque ? Dans quelles conditions optima devra se faire l'évaporation en vue de la forme « extrait » ? Cette évaporation ne sera-t-elle pas nuisible et ne risquera-t-on pas d'obtenir un produit proportionnellement moins actif que celui du liquide alcoolique initial ?

C'étaient là des points importants qu'il était intéressant de vérifier; nous allons les passer en revue, après avoir exposé les recherches analogues, antérieures à notre travail.

Notre thèse comprendra donc plusieurs parties :

Dans la 1^{re} partie nous examinerons tout ce qui a trait
aux essais chimiques de l'Aconit et de ses préparations;
aux essais physiologiques;
aux altérations.

Dans la 2^e partie, toute expérimentale, après avoir donné des indications sur les méthodes employées, nous étudierons dans des chapitres séparés :

la Racine;
la Teinture;
l'Alcoolature;
l'Extrait.

Enfin, nous présenterons les conclusions que nous avons cru pouvoir tirer de toutes ces expériences.

Avant de développer ces différents chapitres, nous sommes très heureuse de pouvoir assurer ici de notre infinie reconnaissance M. le Professeur GORIS, inlassable dans ses conseils et ses encouragements. A cet important sujet qui l'intéresse tout particulièrement et auquel il a attaché son nom, il nous a permis d'apporter notre modeste contribution; pour le mener à bien, il nous a généreusement facilité la réalisation des nombreuses expériences réclamées par ces recherches si exigeantes en matériel animal; nous l'en remercions bien sincèrement.

Nous avons le plaisir et l'honneur de remercier M. le Professeur EM. PERRON qui n'a cessé de s'intéresser à notre travail, et M. le Professeur Agrégé MASCRÉ, notre premier maître en micrographie, d'avoir bien voulu accepter de faire partie du Jury de notre thèse; qu'ils veuillent bien trouver ici, avec nos sentiments respectueux, toute notre gratitude.

Notre excellent ami, Maurice-Marie JANOT, grâce à qui nous avons pu établir une bibliographie très étendue, voudra bien nous permettre de le remercier du temps si précieux qu'il a donné sans compter, et de l'assurer de notre reconnaissance.

Nous exprimerons notre gratitude à M. DEFACQZ, chef de travaux pratiques, à M. Marcel MÉTIN, docteur en pharmacie, et à Mlle FOURMONT, chef de laboratoire à la Pharmacie Centrale des Hôpitaux, pour la complaisance qu'ils

ont mis, au debut de notre travail, à nous initier à certains détails de technique expérimentale.

Enfin, nous n'aurons garde d'oublier notre excellent camarade POTTIER, interne des hôpitaux, dont les connaissances en allemand nous ont grandement facilité notre travail de bibliographie.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

Essais chimiques de l'Aconit et de ses préparations

Il y a quatre préparations galéniques d'Aconit inscrites au Codex français :

une alcoolature,
un extrait mou alcoolique,
une teinture,
un sirop.

On les prépare soit à partir des feuilles fraîches, soit à partir de la racine.

L'*alcoolature* est obtenue par contusion des *feuilles fraîches* et macération de huit jours dans un poids égal d'alcool à 95c. Elle ne doit pas renfermer plus de 0,10 % d'alcaloïdes totaux.

On prépare l'*extrait* par lixiviation de la *racine* pulvérisée, avec de l'alcool à 70c (6 parties pour 1 de poudre). on filtre, on évapore et on concentre le résidu au bain-marie jusqu'à consistance d'extrait mou. Il doit titrer 1 %.

La *teinture* se prépare également par lixiviation de la racine avec de l'alcool à 70c; elle est au 1/10 et doit titrer 0,50 %.

On obtient le *sirop* par simple mélange de la teinture (25 gr.) avec du sirop simple (975 gr.).

Pour ces préparations, le Codex recommande l'emploi de tubercules de remplacement.

Sur vingt Pharmacopées examinées, six ne renferment pas de préparations d'Aconit, ce sont les Pharmacopées :

AUTRICHIENNE,
DANOISE,
FINLANDAISE,
HONGROISE,
NORVÉGIENNE,
ALLEMANDE,

(Cette dernière, qui les mentionnait autrefois, ne les a pas conservées dans l'édition de 1926.)

Par contre, quatorze Pharmacopées les ont adoptées :

ANGLAISE,
BELGE,
ESPAGNOLE,
DES ETATS-UNIS,
FRANÇAISE,
HELVÉTIQUE,
HOLLANDAISE,
ITALIENNE,
JAPONAISE,
MEXICAINE,
PORTUGAISE,
ROUMAINE,
RUSSE,
SUÉDOISE,

Cependant, elles ne sont pas partout identiques et il n'y a guère que la teinture de racine qui soit réellement internationale, depuis la Conférence de Bruxelles, en 1902.

Les feuilles sont employées dans trois Pharmacopées pour l'obtention d'une alcoolature ou d'une teinture. La France et le Portugal les utilisent à l'état frais; le Mexique les emploie à l'état sec pour la préparation d'un extrait fluide, et c'est à partir de ce dernier que se fera la teinture. C'est d'ailleurs la seule Pharmacopée faisant mention d'un extrait fluide de feuilles et d'un extrait fluide de racines. Ces deux préparations doivent être dosées, et titrer, la première 0,20 %, la seconde 0,50 % d'alcaloïdes totaux.

L'extrait mou alcoolique est très peu usité, on le trouve avec des titres différents, dans cinq Pharmacopées :

ESPAGNOLE ET PORTUGAISE (sans indication de titre),
ITALIENNE (0,50 % d'alcaloïdes totaux),
FRANÇAISE ET ROUMAINE (1 % d'alcaloïdes totaux).

La teinture est la plus employée des formes galéniques et on la trouve dans toutes les Pharmacopées qui mentionnent des préparations d'Aconit. On l'obtient toujours par lixiviation de tubercules pulvérisés avec de l'alcool à 70c, et elle doit titrer 0,50 ‰ d'alcaloïdes totaux; seule, la Pharmacopée mexicaine, en diluant au 1/10^e des extraits fluides dans de l'alcool, prépare deux teintures devant titrer, l'une 0,20 ‰, l'autre 0,50 ‰.

Le sirop d'Aconit n'existe que dans les quatre Pharmacopées : belge, française, mexicaine et roumaine.

Il s'obtient toujours par simple addition d'une quantité variable de teinture au sirop simple.

50 gr.	de teinture	pour	950 gr.	de sirop	(Belgique, Roumanie)
25 gr.	—	—	975 gr.	—	(France)
10 cc.	—	—	990 cc.	—	(Mexique)

Enfin, la poudre de racine d'Aconit n'est citée que dans la Pharmacopée belge, avec un titre de 0,80 % d'alcaloïdes totaux.

Le tubercule d'Aconit est donc inscrit et décrit dans les Pharmacopées : belge, espagnole, française, hollandaise, italienne, mexicaine, portugaise et suisse, qui toutes recommandent l'emploi du tubercule de l'année. Les Pharmacopées anglaise, américaine (U.S.A.) et japonaise, ne spécifient rien. La Pharmacopée suisse exige un titre de 0,80 % et la Pharmacopée anglaise un minimum de 0,40 % d'alcaloïdes totaux. Quant à la Pharmacopée des Etats-Unis, elle ne prescrit maintenant qu'un dosage physiologique, comme d'ailleurs pour la teinture; nous reviendrons plus loin sur ce sujet.

Le tableau ci-dessous récapitule les préparations officielles d'Aconit, leur dosage et le titre exigé.

PHARMACOPÉES	EDITION	ANNÉE	TUBERCULES	FEUILLES
Anglaise.	5 ^e	1914	Tubercule entier. Les deux tubercules, minimum 0,40 % d'alcaloïdes totaux.	0
Allemande.	6 ^e	1926	0	0
Autrichienne	8 ^e	1906	0	0
Belge.	3 ^e	1906	Tubercule en poudre 0,80 %	0
Danoise.		1907	0	0
Espagnole.	7 ^e	1915	+	+
Etats-Unis.	10 ^e	1926	Tubercule entier. Dosage physiologique des deux tubercules.	0
Finlandaise.	5 ^e	1914	0	0
Française.		1908 et suppl.	Tubercule entier (tubercule de remplacement).	fraîche
Hollandaise.	5 ^e	1926	+	0
Hongroise.	3 ^e	1909	0	0
Italienne.	4 ^e	1920	Exclusivement le tubercule de l'année.	0
Japonaise.	4 ^e	1922	Les deux tubercules.	0
Mexicaine.	5 ^e	1925	+	sèche
Norvégienne.	5 ^e	1913	0	0
Portugaise.		1876	Seul le tubercule de remplacement	fraîche
Roumaine.	4 ^e	1926	Les deux tubercules.	0
Russe.			Les deux tubercules.	0
Suédoise.	10 ^e	1925	+	0
Suisse.	4 ^e	1907	Rejette le tubercule mère 0,80 %.	0

TEINTURES	ALCOO- LATURES	EXTRAIT	SIROP (*)	DOSAGES
Minimum de 0,04 % d'alcaloïdes totaux.	0	0	0	Epuisement de la racine à l'alcool, évaporation. Extraction à l'éther. Indicateur : T.re de cochenille. Form. 643.
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0,50 ‰	0	0	50 ‰	Dosage titrimétrique. Extract. par éther-chloroforme. Indicateur : iodéosine. Formule 645.
0	0	0	0	0
de racines	0	racines	0	Pas de dosage.
Dosage physiolog.	0	0	0	Le tubercule sous forme de teinture. Teinture administrée par voie sous-cutanée à un cobaye à une D.M.M. non inférieure à 0,00035 cc. par gramme de cobaye et non supér. à 0,00045 c.c.
0	0	0	0	
de racines 0,50 ‰	feuilles 0.10 ‰	1 ‰	25 ‰	Dosage gravimétrique à l'acide silicotungstique. Extraction à l'éther. Formule 645.
0,49 à 0,51 ‰	0	0	0	Dosage titrimétriq. Ether+ammoniaque. Indicateur : rouge de méthyle.
0	0	0	0	0
0,50 ‰	0	mon 0.50 ‰	0	Dosage gravimétriq. Ether+chloroforme +ammoniaque. Extraction et purification de l'alcaloïde. Pesée.
de racines	0	0	0	0
de feuilles: 0,20 ‰	0	fluide de feuilles	10cc pr	Dosage gravimétrique. Extraction par
de racines: 0,50 ‰		0,20 ‰	990cc	éther+ammoniaque. Pesée.
dilution au 1/10 ^e		fluide de racines		
de l'extrait fluide.		0,50 ‰		
avec				
de l'alcool à 70°				
0	0	0	0	0
+	+	+	0	0
0,50 ‰	0	1 ‰	50 ‰	Dosage titrimétrique. Epuisem. à l'éther +chloroforme et soude. Indicateur : iodéosine. Formule 645.
0,50 ‰	0	0	0	Ether+ammoniaque. Distiller. Alcool+eau. Indicateur : hématoxyline. Formule 645.
0,50 ‰	0	0	0	0
0,50 ‰	0	0	0	Dosage titrimétrique. Dissolution dans l'éther. Redissolution dans alcool absolu. Ajouter eau+éther. Indicateur : hématoxyline.

* En teinture pour 1.000 de sirop.

Ainsi, sur quatorze Pharmacopées mentionnant des préparations d'Aconit, neuf seulement pratiquent un dosage chimique, à savoir, les Pharmacopées : anglaise, belge, française, hollandaise, italienne, mexicaine, roumaine, russe et suisse.

Ce dosage, gravimétrique ou titrimétrique, est exprimé en Aconitine, de poids moléculaire égal à 645, qui répond à la formule $C^{34}H^{47}NO^{11}$ adoptée par tous les pays pour l'Aconitine; l'Angleterre seule a une formule un peu différente, elle admet 2H en moins, ce qui donne: $C^{34}H^{45}NO^{11} = 643$.

Le *dosage gravimétrique* par pesée directe des alcaloïdes après extraction par l'éther ou l'éther-chloroforme s'opère dans les deux Pharmacopées : italienne et mexicaine.

Dans la Pharmacopée mexicaine, on chasse l'alcool de l'extrait fluide ou de la teinture par évaporation au bain-marie au-dessous de 60°, on déplace les alcaloïdes au moyen de l'ammoniaque, et, sans purification préalable, on les fait passer en solution dans l'éther, qu'on évapore dans un vase taré.

La Pharmacopée italienne extrait les alcaloïdes déplacés par l'ammoniaque à l'aide d'un *mélange de 2 parties d'éther pour 1 de chloroforme*. On recueille une partie aliquote, on évapore et on reprend par l'acide sulfurique N/100; on reprend par le même mélange éthéro-chloroformique et on déplace par l'ammoniaque. On sépare cette fraction que l'on évapore et que l'on pèse.

La méthode française consiste en un dosage gravimétrique, de technique un peu spéciale. Les alcaloïdes, mis en solution azotique, sont déplacés par l'ammoniaque et repris par l'éther. On les fait alors repasser en solution azotique d'où on les précipite à l'état de silicotungstate. On filtre, on lave, on sèche et on calcine.

Le résidu de SiO^2TuO^3 est multiplié par un coefficient

correspondant à la formule du silicotungstate d'Aconitine, proposée par ECALLE (1) :



Le rapport entre la partie alcaloïdique brûlée et les anhydrides obtenus est :

$$\frac{7 \text{ C}^{34}\text{H}^{47}\text{NO}^{11} \quad 4515}{24 \text{ TuO}^3, 2 \text{ SiO}^2 \quad 5688} = 0,793$$

On multiplie donc le poids de SiO^2TuO^3 pesé par le coefficient 0,793 pour avoir le poids d'Aconitine.

Le *dosage volumétrique* se fait dans les six Pharmacopées : anglaise, belge, hollandaise, roumaine, russe et suisse.

Le dosage des Pharmacopées russe et suisse est un peu particulier : au moyen de l'ammoniaque, on déplace les alcaloïdes d'un poids déterminé de poudre, ou de teinture préalablement évaporée. Les alcaloïdes sont repris par l'*éther* qui est alors éliminé par distillation. On redissout le résidu dans de l'alcool absolu, on ajoute quelques centimètres cubes d'eau, III gouttes d'héματοxyline et de l'éther. On titre au moyen d'acide chlorhydrique N/100 jusqu'à coloration brun-rouge de la couche aqueuse, on ajoute ensuite l'eau, on ferme le matras et on agite fréquemment jusqu'à ce que la couche aqueuse ait pris une coloration jaune-citron, coloration que n'accentuera pas une nouvelle addition d'acide. Le nombre de centimètres cubes employés est alors multiplié par le coefficient 0,00645 (poids d'Aconitine dans 1 c.c. de solution N/100 d'Aconitine).

C'est une méthode identique, d'une part à celle de PANCHAUD (2), qui employait le mélange éther-chloroforme

(1) ECALLE. — Dosage de l'Aconitine dans les préparations d'Aconit. *Journ. Pharm. Chim.*, (6), 1901, 14, 97-102.

(2) PANCHAUD A. — Alkaloidbestimmung in Drogen. *Schweiz-Wochen. für Chem. und Pharm.*, 1903, 41, 523-527 et 585-588.

pour dissoudre les alcaloïdes; d'autre part, à celle préconisée par CÆSAR et LORETZ (1), dans laquelle le dissolvant était l'éther, mais où la base déplaçant les alcaloïdes était la soude. C'est également la technique à l'hématoxyline, indiquée par la Pharmacopée suisse, qui fut employée par STEVENS (2) pour tous ses dosages et recommandée par lui.

Les Pharmacopées belge et roumaine préconisent un titrage dont l'iodéosine est l'indicateur; elles suivent la technique habituelle, mais, tandis que la Pharmacopée roumaine déplace les alcaloïdes par la soude et les redissout dans un mélange éthéro-chloroformique, la Pharmacopée belge emploie le carbonate de soude avec reprise par l'éther seul; de plus, elle use d'un artifice spécial pour la déshydratation complète de la solution éthérée d'alcaloïdes : on lave l'éther avec quelques centimètres cubes d'eau afin d'enlever toute la matière colorante, on décante cette eau et on ajoute 2 à 3 gr. de plâtre. Après un contact suffisant pour éclaircir le liquide, on filtre, puis on lave le filtre et le plâtre à l'éther. C'est cette solution éthérée et déshydratée qui est épuisée par un excès de solution centimale d'acide chlorhydrique.

La Pharmacopée hollandaise dissout dans l'éther les alcaloïdes déplacés par l'ammoniaque; le dosage titrimétrique direct se fait avec une solution titrée d'acide N/100 en présence de rouge de méthyle comme indicateur.

Enfin, la Pharmacopée anglaise qui reprend aussi par l'éther les alcaloïdes déplacés par l'ammoniaque, évapore complètement la solution éthérée. On fait passer dans une solution déterminée d'acide sulfurique N/20 le résidu éthéré, le titrage se fait alors avec la teinture de cochenille comme indicateur. Le coefficient employé par l'Angleterre est, nous le rappelons, 0,00643.

(1) CÆSAR et LORETZ. — *Geschäfts-Bericht*, septembre 1905, 101-102.

(2) STEVENS. — A comparison of the chemical and physiological method of assay. *Pharm. Arch.*, 1903, 6, 50-55.

En résumé, les dosages titrimétriques se distinguent les uns des autres par la nature de la base, du solvant et de l'indicateur, qui servent à déplacer, à dissoudre et à titrer les alcaloïdes. Mais c'est surtout la nature du solvant qui joue le plus grand rôle, car nous verrons qu'il n'est pas indifférent d'employer, pour dissoudre les alcaloïdes, l'éther seul ou le mélange éther-chloroforme (N.-B.).

C'est la Conférence internationale de Bruxelles, réunie pour l'unification de la formule des préparations héroïques qui décida d'adopter le titre de 0,50 d'alcaloïdes totaux pour 1.000 de teinture d'Aconit : les Pharmacopées belge et hollandaise furent les premières à en préconiser le dosage en 1905 (1^{re} édition hollandaise) et 1906 (3^e édition belge).

Cette obligation de titrer les préparations d'Aconit était tout à fait indispensable. Les chiffres suivants donnant la teneur en alcaloïdes totaux de diverses préparations commerciales, nous ont été communiqués par M. le Professeur GORIS; ils dispenseront de toute discussion.

Teinture : alcaloïdes totaux ‰							
0,67	1,32	1,36	0,65	0,61	0,62	0,27	0,83
0,66	0,65	0,39	0,23	0,72	0,66	0,40	

Alcoolature : alcaloïdes totaux ‰							
0,22	0,38	0,36	0,28	0,49	0,13	0,20	0,37

D'ailleurs, tous les auteurs qui se sont occupés du dosage des préparations d'Aconit ont constaté des écarts aussi considérables; cela fait comprendre aisément que les pharmacologues se soient émus de résultats si divergents

N.-B. — Toutes ces techniques sont tirées de la méthode autrefois indiquée par FROMME (1) qui déplaçait les alcaloïdes de la poudre d'Aconit par la soude et les reprenait par l'éther ou l'éther-chloroforme, dont il prélevait un certain poids et qu'il distillait à moitié. Le résidu était agité avec un excès d'acide titré centinormal et l'acidité en excès titrée au moyen de la potasse centinormale.

(1) FROMME, in CÆSAR LORETZ. *Geschäfts-Bericht*, loc. cit.

obtenus à partir de produits que le commerce livrait tous les jours à la thérapeutique.

KELLER (1), après avoir élaboré un procédé général de dosage des alcaloïdes, cita des variations aussi grandes, allant, pour les tubercules d'Aconit, de 0,83 à 1,23 %, et, pour les feuilles, de 0,10 à 0,20 %. C'est à la suite de ses travaux qu'il insista pour que les Pharmacopées apportent la plus grande attention à l'obtention et à l'emploi des médicaments à base d'Aconit (racines et feuilles).

Plus récemment, CHEVALIER (2) avait encore fait remarquer combien l'emploi de drogues non titrées pouvait être dangereux : des tubercules d'Aconit, de provenance américaine, lui avaient donné un chiffre de 0,90 %, alors que le titre de tubercules du commerce, de provenance ignorée, ne dépassait guère, en moyenne, une valeur de 0,50 %.

Signalés par différents laboratoires, ces faits ont provoqué des recherches en vue d'expliquer la cause d'une telle variation de titre.

Il faut tout d'abord mentionner les fluctuations observées dans la teneur alcaloïdique au cours de plusieurs années : les expériences poursuivies pendant cinq ans par BURMANN (3) sur des mêmes pieds d'aconit récoltés à la Tour d'Ai (Vaud), au moment de la floraison et à une altitude de 1.500 à 1.700 mètres sont très concluantes. Voici ses chiffres :

Dosage gravimétrique selon la méthode de KELLER.

1907.....	0,104 %	de la plante fraîche	
1908.....	0,100 %	—	—
1909.....	0,042 %	—	—
1910.....	0,054 %	—	—
1911.....	0,094 %	—	—

(1) KELLER. — Mitteilungen über die Wertbestimmung in Drogen. *Schweitz-Wochen. für Chem. und Pharm.*, 1894, 32, p. 68.

(2) CHEVALIER J. — Note sur un Aconit. *Bull. Soc. Ther.* 1905 (4), 10, p. 355.

(3) BURMANN J. — Sur le développement des principes actifs de quelques plantes médicinales. *Journ. suisse Chim. et Pharm.*, 1912, 50, p. 2-4.

L'auteur attribue ces variations de la teneur alcaloïdique aux conditions météorologiques et en particulier à la température moyenne de l'année pendant laquelle la plante s'est développée (1).

Nous fûmes à même d'observer des faits analogues. Les Aconits sur lesquels ont porté nos essais provenaient des mêmes régions que ceux de MÉTIN. Les Aconits récoltés en octobre-novembre 1921 titraient : tubercules florifères, 0,30 % ; tubercules de remplacement, 0,70 % pour les Aconits des Pyrénées, et, en moyenne, tubercules florifères, 0,65 % , tubercules de remplacement, 2,50 % , pour les Aconits de l'Aisne; tandis qu'à l'époque de nos essais, en octobre 1926, leur teneur était respectivement de 0,25 % pour les Aconits des Pyrénées et de 0,82 % pour les Aconits de l'Aisne.

Une autre série de travaux essaie de démontrer qu'au cours d'une même année et suivant l'époque de l'arrachage on constate des variations assez sensibles dans la teneur alcaloïdique. Les chiffres suivants, fournis par ECALLE (2), en apportent une preuve :

<i>Date de la récolte</i>	<i>Titrage pour 100 gr. de substance fraîche</i>
Pour les tubercules :	
7 mai 1901	0,187 à 0,330
12 août 1901	0,212 à 0,233
10 septembre 1901	0,188 à 0,215
Pour les feuilles :	
25 mai	0,091 à 0,140
12 août	0,053 à 0,082

Malheureusement, ECALLE ne dit pas s'il s'agit de tubercules florifères ou de tubercules de remplacement. S'il a opéré ses dosages sur un mélange des deux tubercules,

(1) BURMANN J. — Influence de la température sur le développement des principes actifs de quelques plantes médicinales. *Journ. suisse Chim. et Pharm.*, 1913, 51, p. 117-118.

(2) ECALLE, — *Loc. cit.*

ces variations peuvent trouver leur explication dans le fait que la teneur en alcaloïdes varie différemment dans les deux tubercules, suivant l'époque de la récolte. En effet, les tubercules de remplacement au moment de leur complet développement, sont plus riches que les tubercules florifères, surtout lorsque ces derniers ont déjà en grande partie épuisé leurs réserves. Un peu avant la floraison, la quantité d'alcaloïdes est à peu près semblable dans les deux tubercules, puis elle va en diminuant dans le tubercule florifère tandis qu'elle reste constante dans le tubercule de remplacement.

DRAGENDORFF (1) et WENTRUP (2), qui ont aussi étudié cette question de la répartition des alcaloïdes dans les deux tubercules d'Aconit, indiquent, le premier une teneur de 0,70 à 0,76 pour le tubercule florifère et 1,53 pour le tubercule de remplacement, le second, les chiffres de 0,35 et 0,53.

Comme le fait remarquer SQUIRE (3), l'automne semblerait la meilleure période pour l'arrachage des Aconits, car à cette époque le tubercule de remplacement est très lourd et le tubercule florifère presque entièrement vidé. Cette remarque fort exacte est difficile à mettre en pratique lorsqu'on veut faire la culture des Aconits. On ne peut songer à la faire au moyen de graines dont la germination est très difficile et qui demande, pour son développement trois à quatre années; c'est pourquoi on se trouve dans l'obligation de planter des tubercules. De ce fait, il

(1) DRAGENDORFF G. — Die Chemische Werthbestimmung einiger starkwirkender Drogen und der aus ihnen angefertigten Arzneimischungen, St. Petersburg, 1874, p. 126. Trad. J. MOREL, Gand, Paris, 1876, p. 3-13.

(2) WENTRUP. — Über den Alkaloidgehalt der Mutter und Tochterknollen von Aconitum Napellus. *Journ. der Pharm. von Els. Lothr.*, 1906, 33, p. 180-183.

(3) SQUIRE. — On the proper time for collecting Aconite root, *Pharm. Journ.*, (3), 1889, 19, p. 645-647 and p. 652-654,

serait logique, comme le recommandent MANSFIELD (1) et MÉTIN, de prélever vers le mois de juillet, au moment de la floraison, le tubercule florifère qui servirait à l'usage pharmaceutique, tandis que le tubercule de remplacement serait réservé à la plantation de l'année suivante.

Par contre, il est certain qu'avec les Aconits de cueillette, il y a plus d'avantages à faire la récolte en automne. Ce sont là deux cas répondant à deux besoins différents et qui méritent d'être étudiés sérieusement, si l'on envisage la question au point de vue commercial — très important lui aussi.

Quoi qu'il en soit, et en attendant une solution définitive, presque toutes les Pharmacopées préconisent le tubercule n'ayant pas donné de tige, ou le tubercule de remplacement évidemment plus compact et plus riche en alcaloïdes.

Pour expliquer cette variation dans le titre en alcaloïdes, on a voulu également faire intervenir l'influence de l'altitude ou de la culture. Ainsi DUQUESNEL (2) préférerait l'emploi des plantes sauvages à celui des plantes cultivées, mais c'était là une idée « à la mode », pourrait-on dire, à laquelle il manquait l'appui de faits exacts précisant et expliquant les raisons de ce choix; il préconisait également les Aconits récoltés dans un sol pierreux ou montagneux comme celui des Vosges ou des Pyrénées. Il est intéressant de rapprocher ces observations des judicieuses remarques d'HOLMES (3) et surtout des idées de LABORDE (4), qui déjà en 1876, posa la question de l'activité variable des aconitines suivant leur provenance. D'après ce dernier,

(1) MANSFIELD W. — Aconite stem-crowned and bud-crowned. *Am. Journ. Pharm.*, 1911, 83, p. 441.

(2) DUQUESNEL. — De l'Aconitine cristallisée. *Journ. Pharm. Chim.*, 1871 (4), 14, p. 94-98.

(3) HOLMES. — Report on the cultivation of Aconitum Napellus. *Pharm. Journ.*, 1888 (3), 19, p. 213-216.

(4) LABORDE. — Sur les propriétés pharmaco-dynamiques de l'Aconitine des Pyrénées. *Journ. Ther.*, 1876, 3, p. 267-268.

les tubercules récoltés dans les Vosges seraient plus toxiques que ceux de Suisse, et, sans dosage chimique, par le simple examen physiologique, il classait les Aconits dans l'ordre croissant suivant : Suisse, Dauphiné, Pyrénées et Vosges.

D'autre part, il paraît indiscutable que, dans les tubercules d'Aconit, la teneur en Aconitine seule varie, en assez forte proportion; d'après HAGER (1), la racine d'Aconit contiendrait normalement de 0,60 à 1,25 % d'alcaloïdes totaux, dont environ 0,20 à 0,80 d'Aconitine cristallisée.

En réalité, toutes ces discussions n'ont plus le même intérêt. Ce qu'il conviendrait surtout de connaître et de doser exactement, c'est l'Aconitine, car le dosage des alcaloïdes totaux ne nous intéresse plus que très secondairement, depuis que nous savons que la Benzoylaconine est 400 à 500 fois moins active et l'Aconine de 1.000 à 2.000 fois moins active que l'Aconitine. Or l'Aconine qui, seule et pure, est complètement insoluble dans l'éther, passe partiellement en solution lorsqu'elle est associée aux autres bases; nos techniques habituelles de dosage sont alors impuissantes à la séparer, donc, à l'éliminer. Cette solubilité relative est encore différente dans le mélange éther-chloroforme on comprend ainsi qu'on ne puisse employer indistinctement l'un ou l'autre de ces procédés. STEVENS le mit en évidence en dosant une même teinture d'Aconit par la méthode titrimétrique : par l'emploi de l'éther comme solvant, il a trouvé 0,375 ‰, et par l'emploi du mélange éthéro-chloroformique, 0,516 ‰.

AUENMULLER (2) recommande, comme la plus précise, la méthode à l'hématoxyline de PANCHAUT (usitée dans les

(1) HAGER. — Zur Kenntniss der Tubera Aconiti und des daraus bereiteten Extrakts. *Pharm. Centralh.*, 1863, 4, p. 1003-1007.

(2) AUENMULLER. — Zusammenstellung der Resultate der bisher im Berner Pharmazeutischen Institut angeführten Arbeiten zur Bestandteile der Drogen und der daraus dargestellten Präparate. *Schw. Apoth.-Ztg.*, 1920, 58, p. 433-436.

Pharmacopées suisse et russe) dans laquelle on fait l'extraction des alcaloïdes à l'éther-chloroforme. Or, nous avons trouvé une note (1), où il est relaté qu'un Aconit de source anglaise aurait donné 1,26 ‰ d'alcaloïdes totaux par le procédé PANCHAUT (éther-chloroforme) et 0,64 ‰ par la méthode de la Pharmacopée de l'U.S.A. (éther seul), et un Aconit d'origine germanique, 1,06 et 1,13 ‰ avec le premier procédé, tandis que le second donnait 0,17 et 0,35 ‰.

Ces divers travaux établissent bien que, actuellement, le dosage chimique de l'Aconitine seule est impossible; et comme, d'autre part, étant donné le peu d'activité des bases qui accompagnent l'Aconitine, le résultat en alcaloïdes totaux est trop imprécis, il faut nécessairement envisager un dosage physiologique pour les préparations d'Aconit.

Ce sont les Américains (U.S.A.) qui, les premiers, ont attiré l'attention sur ces différences d'activité, en comparant expérimentalement les résultats chimiques et les résultats physiologiques; ceux-ci leur semblèrent présenter tant d'avantages que, dans sa 10^e édition, la Pharmacopée des U.S.A. prescrit uniquement le dosage physiologique pour les préparations d'Aconit. En voici les termes :

« L'Aconit, sous la forme de teinture, administré au cobaye par injection sous-cutanée, doit avoir une dose mortelle n'excédant pas 0,00045 c.c. de teinture par gramme d'animal.

« *Essai de la teinture.* — Employer des cobayes pesant de 275 à 325 grammes chaque et en bonne santé. Diluer la teinture avec de l'eau distillée pour avoir un volume d'environ un centimètre cube et l'injecter au cobaye sous la peau de l'abdomen. La dose standard doit tuer, dans l'espace de six heures, au moins deux sur trois des cobayes injectés.

« La dose minimum mortelle ne doit pas être inférieure

(1) EVAN'S analytical notes, 1909, 6.

à 0,00035 c.c. par gramme de cobaye, ni supérieure à 0,00045. »

Malgré tous ces résultats, ce sont surtout les travaux de MÉTIN qui nous ont engagée à poursuivre l'étude de cette si intéressante question, dont le sujet est loin d'être épuisé.

Les Aconits de l'Aisne donnaient une teinture titrant 1,325 % en alcaloïdes totaux, ceux des Pyrénées 0,550 % : il y avait donc une différence de plus du double en faveur des Aconits de l'Aisne, si l'on envisageait seulement leur teneur alcaloïdique.

Lorsque, au contraire, on effectuait le dosage physiologique, on constatait que l'action de la teinture préparée avec les Aconits de l'Aisne était cent fois moindre que celle obtenue à partir des Aconits pyrénéens.

Ce sont ces diverses questions que nous essaierons d'éclaircir dans la seconde partie de ce travail.

CHAPITRE II

Essais physiologiques de l'Aconit

L'insuffisance des méthodes chimiques de dosage des principes actifs des tubercules d'Aconit (*Aconitum Napellus* L.) et des préparations issues de ces tubercules étant bien démontrée par les travaux déjà cités, les pharmacologues ont été amenés à essayer les méthodes physiologiques, mieux adaptées et plus sensibles.

Ces méthodes physiologiques, nombreuses et d'inégale valeur, peuvent être rangées en deux catégories :

A. — MÉTHODES BASÉES SUR LA RÉACTION D'UN TISSU ANIMAL VIVANT : stimulation des terminaisons sensorielles de la langue, enregistrement graphique de la pression sanguine et de la respiration, etc...

B. — MÉTHODES BASÉES SUR LA DÉTERMINATION DE LA DOSE MINIMUM DE DROGUE AMENANT, SUIVANT UNE TECHNIQUE DONNÉE, LA MORT D'UN ANIMAL : poisson, grenouille, chat, chien, cobaye et souris. (N.-B.)

N.-B. — Tout récemment J. C. MUNCH et J. S. GITTINGER (1) et J. C. MUNCH et R. L. GRANTHAM (2) ont proposé l'emploi du rat blanc (injection intrapéritonéale ou mieux sous-cutanée) pour le dosage de l'Aconitine seule ou des préparations galéniques d'Aconit. Malgré une variation notable de la susceptibilité individuelle et une moindre sensibilité que celle « au cobaye », cette méthode est à retenir.

(1) J. C. MUNCH et J. S. GITTINGER. Bio-assay of Aconite and its preparations. I. Lethal dose of Aconitine to rats. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1929, 18, 17-24.

(2) J. C. MUNCH et R. L. GRANTHAM. 3. The comparative toxicity of tincture and fluidextract of Aconite to guinea-pigs and rats. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1929, 18, 993-995.

De prime abord, ces méthodes sont peu comparables et paraissent très éloignées des buts thérapeutiques recherchés dans l'emploi des préparations d'Aconit. Seul le premier groupe se rapproche assez de ces desiderata; quant au second, il ne comprend que des méthodes fixant la seule toxicité, sans souci de l'action thérapeutique; mais, en fait, nous verrons que ces dernières sont les plus exactes et les seules employées, de sorte qu'il suffirait d'établir le rapport entre le standard toxique et l'action thérapeutique pour être en possession d'une méthode très satisfaisante.

Toutefois, avant d'exposer ces méthodes, nous donnerons quelques renseignements schématiques sur la pharmacologie des alcaloïdes que l'on peut rencontrer dans l'Aconit ou dans ses préparations : l'*Aconitine* (acétyl-benzoylaconine), la *Benzoylaconine* (benzaconine) et l'*Aconine* (N.B.).

L'Aconine étant en partie commune à l'Aconitine et à la Benzoylaconine, devrait, semble-t-il, imprimer ses caractères physiologiques à ces deux alcaloïdes, mais l'expérimentation a rapidement infirmé cette hypothèse.

L'*Aconitine* est un hypotenseur. Elle produit sur la langue et les lèvres un picotement suivi d'un engourdissement caractéristiques; elle stimule puis déprime rapidement la respiration, elle abaisse la température interne, elle est enfin un mydriatique.

La *Benzoylaconine*, à faible dose, augmente la pression sanguine, tandis qu'à forte dose elle la diminue; elle possède une amertume prononcée (picro-aconitine).

N.B. — La *napelline* et l'*homonapelline* sont des mélanges en proportions variables d'aconitine et de ses produits d'hydrolyse.

La *néopelline* (C³²H⁴⁵NO⁸) de SCHULZE et BERGER (1), alcaloïde découvert en 1924, hydrolysable en acides acétique et benzoïque et en une base : la *néoline*, posséderait la même toxicité que l'aconitine, alors que la néoline serait très peu toxique.

(1) H. SCHULZE et G. BERGER. — Zur Kenntnis der Aconital-kaloide. Ein neues alkaloid aus *Aconitum Napellus*. *Arch. der Pharm.*, 1924, 262, p. 553-563.

L'*Aconine* est franchement un hypertenseur. Elle est douée d'une saveur légèrement amère.

Mais c'est surtout dans leur *action toxique* que ces trois alcaloïdes se différencient.

Dans leur remarquable travail sur la pharmacologie de ces alcaloïdes, CASH et DUNSTAN (1), en 1898, établirent pour les bromhydrates de ces alcaloïdes, les doses mortelles suivantes :

Bromhydrate en solution aqueuse et injection sous-cutanée
(N. B.)

Chat	Lapin	Cobaye	Grenouille
<i>Aconitine :</i>			
0,000.000.134	0,000.000.131	0,000.000.12	0,000.000.58 (mars) 0,000.001.4 (juill.)
<i>Benzoylaconine :</i>			
0,000.034.5	0,000.027.2	0,000.023.8 0,000.029.3	0,000.284
<i>Aconine :</i>			
0,000.168	»	0,000.275	0,001.55 0,001.75

L'enlèvement du groupement acétyl à l'Aconitine modifie donc la toxicité de ce produit; la Benzoylaconine étant, pour le cobaye, de 200 à 250 fois moins toxique que l'Aconitine.

L'enlèvement du groupe benzoyl à la Benzoylaconine (donnant de l'Aconine) diminue encore l'action toxique, l'Aconine étant, pour le cobaye, environ 2.300 fois moins toxique que l'Aconitine et 10 fois moins toxique que la Benzoylaconine.

Au contraire, le remplacement du groupe acétyl par le

(1) J.B. CASH et W.R. DUNSTAN. — The pharmacology of aconitine, diacetylaconine, benzaconine and aconine considered in relation to their chemical constitution. *Philos. Transact.*, 1898, 190 B, p. 239-393.

N.-B. — Toutes les doses toxiques sont indiquées ici en grammes par gramme d'animal.

groupe vératryl renforce l'action du type aconitique comme l'étude des aconits toxiques de l'Inde l'a démontré.

DOHME (1), en 1921, a obtenu sur le cobaye les résultats consignés dans le tableau suivant :

Solution aqueuse acétique
Injection sous-cutanée dans la région abdominale

Aconitine cristallisée	0,000.000.062
Benzoylaconine	0,000.02
Aconine	0,000.25

D'après cet auteur, l'Aconitine serait donc environ 300 fois plus toxique que la Benzoylaconine et 4.000 fois plus que l'Aconine.

En 1924, SWANSON (2) a donné pour le cobaye les chiffres suivants :

Solution alcoolique acidulée. — Injection sous-cutanée.

Aconitine	0,000.000.060
Benzoylaconine	0,000.030
Aconine	0,000.30

L'Aconitine serait alors 500 fois plus toxique que la Benzoylaconine et 5.000 fois plus toxique que l'Aconine.

En 1927, JAUREGUI (3), en employant de l'Aconitine de MERCK en solution dans l'acide acétique à 2 %, a trouvé, pour le cobaye, que la dose mortelle en injection sous-cutanée, était comprise entre 0,000.000.060 et 0,000.000.065, chiffres établis après de nombreuses expériences.

Pour le chat, la dose mortelle serait comprise entre 0,000.000.070 et 0,000.000.075, et pour le chien, elle serait de 0,000.000.070. Ces résultats, très remarquables, montrent que les doses toxiques, pour ces trois animaux sont voi-

(1) DOHME. — The assay of Aconite. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1921, 10, p. 428-430 et *Pharm. Era*, 1921, 54, p. 197.

(2) Edw. E. SWANSON. — The standardization and stabilization of aconite preparations. *Journ. Am. Pharm. Assoc.* 1924, 13, p. 1108-1112.

(3) G. JAUREGUI. — The biological assay of aconite. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1927, 16, p. 1045-1052.

sines, à condition de suivre une technique expérimentale sur laquelle nous reviendrons (N.B.).

Afin de fixer les idées, nous allons décrire l'intoxication du cobaye par ces trois alcaloïdes, après injection sous-cutanée abdominale.

a) *Aconitine*. — Aussitôt après l'injection, l'animal porte vivement le museau à l'endroit piqué, se lèche, semblant vouloir atténuer une douleur locale, puis, poussant de petits cris plaintifs, il s'agite sur place, puis s'immobilise; le poil hérissé, il se pelotonne sur lui-même, les pattes postérieures ramassées sous le train de derrière, la tête relevée, le museau en avant, il mâchonne et paraît inquiet. Ces premiers symptômes se produisent en l'espace d'une dizaine de minutes et sont souvent accompagnés d'émission d'urine, et de diarrhée.

Si l'on force l'animal à se déplacer, on constate de l'incoordination motrice, les pattes postérieures répondent difficilement à un acte volontaire. Tout à coup l'animal est pris d'un hoquet caractéristique, les muscles du ventre et du thorax se contractent énergiquement et, instantanément, l'animal tendant le cou, exécute un profond « salut » accompagné, souvent, d'un cri très particulier : une sorte de « couac ». Un liquide filant, visqueux, s'échappe de sa bouche, la respiration s'accélère, la paralysie des pattes postérieures s'accroît, l'animal frissonne, s'étend sur le côté, la bouche ouverte, à demi-asphyxié. Avec la salivation de plus en plus abondante, le hoquet si typique se

N.-B. — Les résultats de différents auteurs sont difficilement comparables car, échelonnés sur une trentaine d'années, ils ont été obtenus à l'aide d'alcaloïdes extraits de drogues d'origines botaniques identiques, mais de provenances géographiques différentes. D'ailleurs MERCK (1) a montré, en 1918, que des aconitines commerciales préparées par différentes usines ne présentaient pas toujours des actions identiques. Ces faits rappelés, il est donc impossible, en particulier, de traduire tous les résultats en aconitine-base.

(1) E. MERCK. — Dosierung der Aconitine, d'après *Jahresber. der Pharmazie*, 1918, 53, 152.

renouvelle à intervalles plus ou moins réguliers et persiste jusqu'à la mort.

b) *Benzoylaconine*. — L'animal, aussitôt injecté se met à courir, puis s'arrête brusquement et tombe. Il devient flasque, remue la tête et les pattes antérieures, la respiration est faible, il fait de fréquents efforts pour changer de position, les spasmes sont nombreux, l'animal se refroidit, semble anesthésié, et, la respiration devenant de plus en plus faible, il meurt.

c) *Aconine*. — Peu de temps après l'injection, l'animal présente de la faiblesse des membres, il frissonne, claque des dents, la respiration diminue insensiblement, il se refroidit et meurt sans présenter les phénomènes graves observés avec l'Aconitine (N.B.).

A. — MÉTHODES BASÉES SUR LA RÉACTION D'UN TISSU
ANIMAL VIVANT.

a) *Méthode de SQUIBB* (4).

Cette méthode, la première des méthodes physiologi-

N.-B. — CASH et DUNSTAN (1) ont constaté l'action antagoniste de l'aconine vis-à-vis de l'aconitine et ceci sur la grenouille : si on injecte une dose de 0 gr. 008 à 0 gr. 015 d'aconine à une grenouille décérébrée, dont le cœur est à nu, elle résiste ensuite à une injection d'aconitine, supérieure à la dose mortelle, l'ensemble des symptômes de l'empoisonnement par l'aconitine ne se produisant pas. On peut ainsi, par une injection préventive d'aconine, prémunir l'animal contre une fois et demie la dose mortelle d'aconitine.

Des faits du même ordre ont été constatés sur le cobaye par GORIS et MÉTIN (2), en ce qui concerne l'anthorine (alcaloïde retiré de l'*Aconitum Anthora*, aconit indigène non toxique), vis-à-vis de l'aconitine. Ces auteurs ont pu préserver un cobaye contre une dose une fois et demie mortelle d'aconitine. GORIS et LACHAISE (3) ont trouvé, en utilisant les épinoches, une action phylactique semblable de la brucine vis-à-vis de la strychnine.

(1) CASH et DUNSTAN. — *Loc. cit.*

(2) A. GORIS et M. MÉTIN. — Action préventive de l'anthorine vis-à-vis de l'aconitine. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, 180, p. 1132-1134.

(3) A. GORIS et L. LACHAISE. — Sur l'action phylactique de la brucine vis-à-vis de la strychnine. *C. R. Ac. Sc.*, 1927, 184, p. 1091.

(4) SQUIBB. — *Ephemeris*, 1882, 1, p. 126.

ques, consiste à déterminer la dose minimum de produit provoquant, dans un temps donné, la réaction particulière de l'Aconitine sur la langue et les lèvres de l'homme : picotement, puis engourdissement. La réaction-limite étant obtenue avec l'Aconitine, on opère de la même façon avec l'Aconit ou ses préparations. On conduit l'expérience de la manière suivante : la bouche est rincée à l'eau distillée, puis 4 c.c. de la dilution à examiner sont maintenus pendant une minute dans la partie antérieure de la bouche. On rejette le liquide et le picotement doit apparaître au bout de 15 à 30 minutes. L'expérience est généralement faite simultanément par plusieurs personnes. La dose minimum d'Aconitine que l'on peut déceler ainsi est, pour la plupart des individus, de l'ordre du millième de milligramme.

C'est une excellente méthode de diagnose de l'Aconitine qui présente très peu de réactions caractéristiques, c'est d'ailleurs en se servant de celle-ci que GORIS et MÉTIN (1) ont pu prouver l'existence de l'Aconitine dans un hybride de l'*Aconitum Anthora*, $\times$ *Aconitum Napellus*: l'*Aconitum Anthora* ne contenant pas d'Aconitine.

Les auteurs opèrent de la façon suivante : la solution alcoolique des sels alcaloïdiques ou des alcaloïdes extraits des racines est déposée par gouttes sur des carrés de papier-filtre de 1 cm. de côté, fixés au bout d'une épingle. On laisse évaporer l'alcool à l'air libre ou à l'étuve à 30°, on ajoute de nouvelles quantités de liquide jusqu'à ce qu'il y ait sur le papier un poids déterminé d'alcaloïde. Ces petits carrés de papier sont alors déposés sur la partie antérieure de la langue, plusieurs observateurs prenant part aux expériences. Les auteurs fixent les limites de la sensibilité à 0,000.005, pour la généralité des cas, et les personnes habituées à cette technique, décèlent très facilement 0,000.003 d'Aconitine. Ces chiffres correspondent

(1) A. GORIS et M. MÉTIN. — Sur la composition chimique d'un hybride d'Aconit. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, 180, p. 1282-1284.

sensiblement à ceux de SQUIBB et des auteurs américains ayant employé cette méthode.

Cependant, on peut formuler les critiques suivantes: le coefficient personnel joue ici un très grand rôle, comme nous l'avons maintes fois constaté. L'imagination et la suggestion ont aussi une influence non négligeable. PEARSON (1), en 1908, puis, en 1910, WOOD (2) et SCOVILLE (3), avaient déjà remarqué ces faits schématisés d'une façon typique en 1911 par une expérience ainsi conduite par STEVENS (4).

Une teinture titrant chimiquement 0,837 a été diluée au 1/1.200 et essayée d'après la méthode de SQUIBB par douze expérimentateurs familiarisés avec cette sorte d'essai. Voici les résultats obtenus :

6	ont ressenti le picotement caractéristique à la dilution au 1/1200	
2	—	1/900
1	a ressenti	1/800
1	—	1/600
2	ne purent apprécier une dilution au 1/150, mais furent sensibles à celle au 1/100.	

D'autre part, on constate, pour une même personne, des variations journalières et l'impossibilité de répéter plusieurs fois par jour le même essai. HASKELL (5), en 1912, puis FORD (J. C.), FORD (C. P.) et WINE (J. C.) (6), en 1915, ont critiqué aussi ces variations individuelles.

(1) W. A. PEARSON. — The pharmacopœia from the view point of an analytical worker. *Am. Journ. Pharm.*, 1908, 80, p. 75.

(2) WOOD. — Report of Committee on physiological assay. *Proceed. Am. Pharm. Assoc.*, 1910, 58, p. 940-941.

(3) W. L. SCOVILLE. — Some comments on the alkaloidal assay methods of the U.S.P. *Proceed Am. Pharm. Assoc.* 1910, 58, p. 820.

(4) STEVENS. — Assay of Aconite, *Pharm. Journ.* (4), 1911, 33, p. 33.

(5) HASKELL Ch. C. — Physiological drug testing and the Pharmacopœia. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1912, 1, p. 696-701.

(6) FORD J. C., FORD C. P. and WINE J. C. — A comparison of the Guinea-pig and cat methods for the physiological standardization of Aconite preparations. *Am. Journ. Pharm.*, 1915, 87, p. 489-492.

En effet, ces résultats sont incontrôlables puisqu'ils ne laissent aucun témoignage matériel tel que l'enregistrement graphique d'une réaction physiologique; aussi, à notre sens, cette méthode ne peut servir que comme guide qualitatif et rapide de la valeur d'une drogue ou de ses préparations.

Cependant ROTH (1), en 1913, ayant fait des essais comparatifs des méthodes physiologiques employées à cette époque (détermination de la dose mortelle pour la grenouille et le cobaye, variation de la pression sanguine du chien, observation sur le cœur isolé de la grenouille et enfin méthode de SQUIBB), préconisait en conclusion la méthode au cobaye et celle de SQUIBB. Il constatait bien que les résultats obtenus par cette dernière sont toujours plus faibles que ceux donnés par la méthode au cobaye, mais il pensait que le facteur subjectif pouvait être en partie annihilé en employant une bonne préparation d'Aconitine standard, et en s'habituant à cet essai.

b) Observation de la pression sanguine.

1° *Sur le chien.* — On opère sur des animaux anesthésiés (injection sous-cutanée de morphine et intra-abdominale de chlorétone). On pratique la respiration artificielle et on injecte la drogue dans la veine jugulaire ou dans la fémorale : la pression sanguine est prise sur la carotide. A la suite des résultats inconstants obtenus par ROTH, puis récemment par JAUREGUI (2), cette méthode a été abandonnée pour l'essai de l'Aconit et de ses préparations, car on ignore les proportions respectives d'Aconitine (hypotenseur), de Benzoylaconine (hypo et hypertenseur) et d'Aconine (hypertenseur) qui s'y trouvent, et, comme leurs

(1) ROTH. — The physiological assay of aconite. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1913, 2, p. 705-712.

(2) JAUREGUI. — *Loc. cit.*

propriétés physiologiques sont antagonistes, on ne peut en déduire la richesse en Aconitine.

2° *Sur le cœur isolé de la grenouille.* — On perfuse le cœur avec un liquide de RINGER additionné de la solution alcaloïdique à examiner. La canule d'entrée est dans la veine cave et la canule de sortie dans l'aorte. La base du ventricule est mise en contact avec un levier qui enregistre les mouvements.

Cette méthode est très incertaine. ROTH qui l'a expérimentée à l'aide du chlorhydrate d'aconitine de MERCK, a constaté de grandes variations, suivant l'époque de l'année. Par exemple, en octobre, novembre, décembre, il obtint des résultats à la dilution de 1/2.000.000, alors qu'en janvier, février, mars, les mêmes résultats furent obtenus difficilement avec une dilution au 1/800.000. Ces écarts sont encore beaucoup plus grands en employant des préparations d'Aconit, aussi ROTH déconseille-t-il cette méthode pour l'étude des préparations galéniques.

B. — MÉTHODES DE DÉTERMINATION DE LA DOSE MINIMUM MORTELLE POUR UN ANIMAL DONNÉ.

a) *Grenouille.*

Dans les sacs lymphatiques ventraux de la grenouille, on injecte la solution d'alcaloïdes ou les préparations d'Aconit, débarrassées au préalable de l'alcool, par évaporation au bain-marie et diluées à un volume déterminé à l'aide de soluté isotonique de chlorure de sodium. On opère simultanément sur une dizaine de grenouilles et on note combien d'entre elles sont mortes après 24 heures. En général, le ventricule s'arrête en systole et les oreillettes sont très dilatées. La dose minimum mortelle est, d'après la plupart des auteurs de 0,000.016 gr. (en Aconitine). Au lieu d'attendre 24 h., on peut employer une mé-

thode, préconisée par FAMULENER et LYONS (1) pour la digitale et connue sous le nom de « méthode de la grenouille, une heure ». Après injection dans les sacs lymphatiques, et au bout d'une heure, le thorax est ouvert et on observe le cœur : si le cœur bat encore la dose injectée a été insuffisante. Si la paralysie du cœur est complète, la dose a été excessive. On recherche la dose minimum capable de produire la paralysie du sommet ventriculaire, tandis qu'il subsiste encore une faible onde de contraction dans la région auriculo-ventriculaire et que les oreillettes, très dilatées, continuent à battre régulièrement.

ROTH (2), puis FORD, FORD et WINE (3), ont montré que ces méthodes étaient peu recommandables, car il faut opérer sur des animaux de même espèce, placés dans des conditions identiques et à la même époque de l'année; aussi préfèrent-ils la méthode au cobaye.

b) Chat.

On applique à l'Aconit, la méthode de HATCHER, donnée pour la Digitale.

Les chats sont à jeun depuis 24 heures. On injecte alors dans la saphène droite de l'animal anesthésié par l'éther (méthode à la goutte), la solution d'Aconitine ou la préparation d'Aconit dont on a chassé l'alcool et que l'on a diluée à un volume donné à l'aide de soluté isotonique de chlorure de sodium : le terme final observé est l'arrêt du cœur.

Cette méthode employée en 1915 par FORD, FORD et

(1) FAMULENER L. W. and LYONS A. B. — Relative strength of the various preparations of digitalis and kindred drugs as shown by experiments on frogs. *Proceed Am. Pharm. Assoc.*, 1902, 50, p. 415-425.

(2) ROTH. — *Loc. cit.*

(3) FORD J. C., FORD C. P. and WINE J. C. — *Loc. cit.*

WINE, fut surtout préconisée par HASKELL et THOMAS (1) qui montrèrent que les chats pourraient être utilisés avec succès. Mais ils firent remarquer que le sexe influe, d'une façon très nette, sur la résistance à l'action toxique : les femelles sont moins sensibles et présentent de plus grandes variations individuelles que les mâles : ces derniers doivent seuls être employés.

HASKELL (2), la même année, en étudiant l'influence de la saison sur la résistance du cobaye à l'intoxication aconitique, préconise de nouveau la méthode au chat, parce que cet animal ne présente pas de variations saisonnières.

JAUREGUI (3), au contraire, a montré que la méthode au chat était peu recommandable, si on opère sur des animaux anesthésiés à l'éther par la méthode « à la goutte » ; la dose mortelle d'Aconitine variant alors de 0,000.000.023 à 0,000.000.125, car, bien que l'Aconit à dose toxique affecte plus la respiration que le cœur, il est évident que l'emploi des anesthésiques dont l'action déprimante sur les centres respiratoires ne peut être mesurée facilement est une objection très sérieuse à l'emploi de la méthode. Cependant JAUREGUI, en insufflant directement l'éther dans les bronches, et en maintenant la respiration artificielle obtint des résultats plus constants. Aussi les doses mortelles ne se répartirent-elles plus qu'entre 0,000.000.053 et 0,000.000.060.

c) Chien.

On utilise l'injection intra-veineuse dans la fémorale, après anesthésie par la morphine et le chloroforme. JAURE-

(1) HASKELL Ch. and THOMAS H.B. — A Comparison of the results secured by the use of the guinea-pigs and cats methods for the assays of tincture of aconite. *Am. Journ. Pharm.* 1916, 88, p. 3-7.

(2) HASKELL Ch. C. — Seasonal variation in the resistance of Guinea-pig to poisoning by tincture of aconite. *Am. Journ. Pharm.* 1916, 88, p. 243-246.

(3) JAUREGUI. — *Loc. cit.*

qui a constaté des écarts considérables. Ainsi, sur 11 chiens traités :

- 5 furent tués par des doses comprises entre :
0,000.000.056 et 0,000.000.065
- 3 furent tués par des doses plus petites :
0,000.000.039 et 0,000.000.046
- 3 furent tués par des doses bien supérieures :
0,000.000.093 et 0,000.000.108

Cette méthode est donc peu fidèle.

Remarque. — Sur 5 chiens, après section des vagues, les doses mortelles se sont réparties entre 0,000.000.045 et 0,000.000.076, ce qui confirme l'inconstance de la méthode.

d) Cobaye.

Les solutions d'alcaloïdes ou les préparations d'Aconit, débarrassées de l'alcool par évaporation, puis étendues d'un soluté de chlorure de sodium, sont injectées sous la peau de la partie abdominale. GITHENS et WANDERKLEED (1), dans un travail sur la standardisation des médicaments cardiaques en général, semblent avoir été les premiers à préconiser l'emploi du cobaye. En 1913, ROTH (2) expérimenta cette méthode parallèlement à d'autres et la recommanda comme très fidèle et très sensible. Depuis cette époque, presque tous les pharmacologues sont arrivés aux mêmes conclusions. Les objections faites jusqu'alors se résument ainsi : la sensibilité des cobayes, d'après HUNT (3) varierait avec les saisons. Par suite de la trop courte durée de leurs expériences, ces faits ne purent d'abord être

(1) GITHENS and VANDERKLEED. — Physiologic standardization of cardiac stimulants and depressants. *Proceed. Am. Pharm. Assoc.*, 1910, 58, p. 919-922.

(2) ROTH. — *Loc. cit.*

(3) HUNT in HASKELL et ZIRKLE. — *Loc. cit.*

mis en évidence par HASKELL et ZIRKLE (1), mais, l'année suivante, Ch. C. HASKELL (2) constata ces variations saisonnières en employant une teinture d'Aconit et préconisa la méthode au chat.

Personnellement, à la suite de nombreux dosages physiologiques de préparations d'Aconit à différentes époques de l'année, nous n'avons jamais relevé d'une façon caractéristique d'importantes variations de la dose minimum mortelle pour le cobaye.

Dès 1916, la Pharmacopée des U.S.A., dans sa 9^e édition, reconnut officiellement la valeur de l'essai physiologique et adopta la méthode de la D.M.M. (3) pour le cobaye, et, en 1926, dans sa 10^e édition, elle la conserva encore comme test physiologique.

Pour éprouver la commodité et la constance de cette méthode, DOHME (4), en 1921, envoya à 5 laboratoires différents, de l'Aconitine cristallisée et un extrait fluide de racine d'Aconit. Les résultats furent satisfaisants :

	Aconitine cristallisée	Extrait fluide de racine
	par gramme de cobaye	
SHARP and DOHME.....	0,000.000.062.5	0,000.300
UPJOHN	0,000,000.060	0,000.266
PARKE, DAVIS and C ^o	0,000.000.060	0,000.300
ELI LILLY and C ^o	0,000.000.062.5	0,000.275
NORWICH Pharmacal C ^o	0,000.000.051	0,000.360

ROBINSON (5), par contre, ne put obtenir l'uniformité de la D.M.M., même en employant l'Aconitine cristallisée. Il trouva, en particulier, que des cobayes survivaient à

(1) HASKELL Ch. C. et ZIRKLE H. W. — A comparison of the results secured by the use of chemical and physiological assay methods for tincture of aconite. *Am. Journ. Pharm.*, 1915, 87, p. 537-540.

(2) HASKELL Ch. C. — *Loc. cit.*

(3) D.M.M. — Dose minimum mortelle.

(4) DOHME. — *Loc. cit.*

(5) ROBINSON in JAUREGUI, — *Loc. cit.*

des doses ayant entre elles des écarts relativement considérables : 0,000.000.075 et 0,000.000.100, tandis que la même préparation tuait d'autres individus à des doses inférieures à 0,000.000.050. SWANSON et WALTERS (1) avaient obtenu des résultats parfaitement concordants et SWANSON (2) recommandait simplement d'opérer toujours avec des cobayes de poids très peu différents, acclimatés à la vie du laboratoire et recevant une nourriture identique, puis de pratiquer l'injection avec une égale quantité de liquide et une dilution constante. Cette méthode a donné satisfaction, en particulier à MÉTIN (3) dans son étude des variations de la teneur alcaloïdique de l'*Aconitum Napellus*. Les doses mortelles obtenues avec l'Aconitine en injection sous-cutanée, se situent, pour la plupart des auteurs, entre 0,000.000.060 et 0,000.000.070, l'injection intra-péritonéale, n'améliorant en rien la méthode, est très rarement utilisée.

e) *Souris*.

ROWE (4), dans un but économique, a songé à remplacer le cobaye par la souris blanche. Il opère par injection intra-péritonéale, en ayant soin de ne pas employer un volume supérieur à 1 c.c. D'après cet auteur, les souris sont moins sensibles à l'Aconitine que les cobayes, environ

(1) SWANSON et WALTERS. — The standardization and stabilization of aconite preparations. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1923, 12, p. 957-963.

(2) SWANSON. — The standardization and stabilization of aconite preparations. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1924, 13, p. 1108-1112.

(3) MÉTIN. — Les variations de la teneur alcaloïdique de l'*Aconitum Napellus* L. *Thèse Doct. Un. Pharm.*, Paris, 1925, p. 61-64.

(4) ROWE. — The bio assay of aconite. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1925, 14, p. 968-970.

6,25 fois moins. Les doses proposées par ROWE sont les suivantes :

	Standard D.M.M. p ^r le cobaye		Quotient	Standard p ^r la souris
Extrait fluide aconit.....	0,000.040	cc.	1/6,25	0,000.250.5 cc.
— solide —	0,000.010	gr.	1/6,25	0,000.060 gr.
Teinture d'aconit	0,000.400	cc.	1/6,25	0,002,5 cc.
Aconitine	0,000.000.08	gr.	1/6,25	0,000.000.5 gr.

Mais JAUREGUI ne se rallie pas à ces chiffres (N.-B.).

En résumé, aucune des méthodes du premier groupe n'est à retenir comme moyen réel d'étalonnage physiologique; la méthode de SQUIBB demeure néanmoins un guide très sûr pour le choix de drogues destinées à l'extraction des alcaloïdes et pour l'orientation de recherches au laboratoire.

Quant aux méthodes du second groupe, celles utilisant les chats ou les chiens sont, en suivant des techniques simples, assez infidèles et pratiquement inabordables pour notre pays. Celle qui emploie la grenouille est relativement la moins sensible et présente des variations saisonnières la rendant inapplicable. L'emploi de la souris blanche paraît assez séduisant, mais la sensibilité et la sécurité de cette méthode ne sont pas encore suffisamment éprouvées, et, comme elle ne présente pas d'avantages réels sur l'emploi du cobaye, c'est, en dernière analyse, à cette D.M.M. qu'il faut se rallier.

A cet effet, on emploiera des animaux du poids de 300 à 450 grammes, sains et acclimatés depuis au moins trois

N.-B. — L. LOMBA (1) a constaté que les épinoches étaient très sensibles à l'aconitine et il a obtenu la mort avec une solution de chlorhydrate d'aconitine à la dose de 1/8.000, de mgr. dans 25 cc. d'eau. Mais cette méthode du domaine toxicologique n'a pas été, à notre connaissance, appliquée aux préparations d'aconit.

(1) LOMBA L. — Les poissons, réactif biologique très sensible des alcaloïdes. *Thèse Doct. Méd.*, Paris, 1922.

semaines à la vie du laboratoire. Après un jeûne de 24 heures, la solution du produit à examiner, amenée à un volume de 2 c.c. par dilution avec du soluté isotonique de chlorure de sodium sera administrée en injection sous-cutanée abdominale. On ne tiendra compte que des expériences où la mort se produira dans un espace maximum de 6 heures.

La méthode au cobaye se recommande par sa sensibilité, sa constance et sa commodité depuis longtemps éprouvées, et il paraît souhaitable que, si la Pharmacopée française se décide à adopter les méthodes physiologiques d'essai de ses médicaments, elle prescrive, pour l'Aconit, l'emploi de ce réactif « biologique ».

CHAPITRE III

Altérations des préparations d'Aconit

Valeur comparée des méthodes chimiques et physiologiques d'essai de ces préparations

Sans tenir compte des confusions possibles sur l'espèce botanique, depuis très longtemps on avait donc constaté des variations dans l'activité des préparations d'Aconit. On les rapportait soit à l'origine géographique, soit à l'influence des différents facteurs conditionnant l'habitat de la plante, soit à la nature du tubercule employé, soit enfin à l'époque de la récolte (N.B.).

Mais depuis la fin du ^{xix}^e siècle, on a constaté quelques cas où l'activité de préparations primitivement satisfaisantes, diminuait en fonction du temps. Les méthodes chimiques étant insuffisantes, ce furent les méthodes physiologiques qui mirent ces altérations en évidence.

Nous avons donc été amenée à faire une étude comparée, aussi rapide que possible, de la valeur réciproque de ces méthodes d'essai.

Dès 1877, ALDER WRIGHT (2), dans les conclusions de

N.B. — Ces variations ont été minutieusement étudiées par M. MÉTIN (1), au laboratoire de M. le Professeur GORIS.

(1) MÉTIN M. — *Loc. cit.*

(2) ALDER WRIGHT. — Third report on the chemistry of the Aconite alkaloids. *Pharm. Journ. and Transac.*, (3), 1877, 8, p. 164-172.

son troisième rapport sur la chimie des alcaloïdes de l'Aconit, faisait remarquer l'hydrolyse facile de l'Aconitine conduisant à des produits beaucoup moins actifs, il faisait ainsi prévoir une diminution graduelle de l'activité des préparations liquides, telles que teintures et extraits fluides, altération devant être inévitable au cours de leur conservation en milieu neutre ou alcalin.

Plus tard, les travaux de MANDELIN (1), de DUNSTAN (2) et de ses collaborateurs, de FREUND et BECK (3), précisèrent les conditions des divers stades de l'hydrolyse de l'Aconitine.

En 1903, STEVENS (4) étudia l'action de la chaleur sur le tubercule sec et il constata, qu'après avoir été maintenu pendant deux heures à 100°, ni la teneur en alcaloïdes, ni l'activité essayée par la méthode de SQUIBB, n'avaient changé de valeur.

Mais en 1909, TAYLOR (5) s'aperçut qu'un extrait fluide, dont la réaction de SQUIBB était primitivement positive à la dilution de 1/700°, après avoir été chauffé deux heures à 100°, perdait 12 % de son activité antérieure, c'est-à-dire que cette réaction ne se produisait plus qu'à la dilution de 1/80. Le dosage chimique volumétrique accusait pourtant encore 64 % de la valeur primitive. Le même auteur fit ensuite un extrait solide à partir de l'extrait fluide précédent, par évaporation dans le vide au-dessous de 45° (200 gr. ayant donné 63 gr.); le calcul montra que la réaction de SQUIBB devait avoir lieu à la

(1) MANDELIN. — Zur Lösung der Aconitinfrage. *Archiv der Pharm.* (3), 1885, 23, p. 97-102, 129-141, 161-177.

(2) DUNSTAN et PASSMORE. — Contribution to our knowledge of the Aconite alkaloids. *Journ. Chim. Soc.*, 1892, 61, p. 395.

DUNSTAN et CARR. — Contribution to our Knowledge of the Aconite alkaloids, 1893, 63, p. 991; 1894, 65, p. 176; 1894, 65, p. 290.

(3) FREUND et BECK. — Zur Kenntniss des Aconitins. *Ber. Deuts. Chim. Gesel.*, 1894, 27, p. 433.

(4) STEVENS. — *Loc. cit. Pharm. Arch.*, 1903, 6, p. 50-55.

(5) TAYLOR. — Aconite. *Journ. of Indus. and Engin. Chem.*, 1909, 1, p. 549-567.

dilution de 1/2.222, et, en pratique, TAYLOR trouva 1/2.250, prouvant ainsi que l'Aconitine ne s'était pas altérée. Un autre échantillon du même extrait fut chauffé deux heures à 100°; l'essai de SQUIBB eut alors une valeur de 1/150, c'est-à-dire qu'il ne présentait plus que 6,7 % de sa valeur originelle. L'essai gravimétrique décelait cependant presque la même teneur en Aconitine; mais, bien que d'autre part la méthode volumétrique employée simultanément tendit à réduire l'erreur, il apparut déjà nettement que les méthodes chimiques se montraient insuffisantes.

La même année, BERNEGAU (1) mentionna que les préparations du type « extrait », sauf l'extrait fluide, se détérioraient beaucoup plus rapidement que les préparations alcooliques.

Par contre, SCOVILLE (2), après avoir effectué un contrôle à la fois chimique et physiologique (méthode de SQUIBB), prétendit que l'on ne constate aucune altération des préparations soit de teintures, soit d'extraits. Nous reproduisons ici le résultat de ses expériences :

	Date de la fabrication	Titre	%			
Extrait fluide (feuilles).....	1 ^{er} Juill. 1907	1,350	(Squibb)			
— (racines).....	25 Janv. 1908	1,700	—			
		0,400	—			
Teinture de racines.....	3 Oct. 1908	0,045	—			
Extrait de racines.....	15 Sept. 1907	1,300	—			
Extrait de racines.....	15 Sept. 1907	1,300	—			
Essayés à nouveau en :						
	Janv. 1909	Avril 1909	Juill. 1909	Oct. 1909	Janv. 1910	
(feuilles)	0,400	0,304	0,417	0,500	0,500	} Aspect légèrement précipité
(racines)	0,390	0,390	0,384	0,403	0,480	
	0,400	0,410				
Teinture (racines)....	0,050	0,048	0,050	0,051	0,051	
Extrait —	1,180				1,152	

(1) BERNEGAU H. — Some laboratory notes on assay work. *Am. Journ. Pharm.*, 1909, 81, p. 122-125.

(2) SCOVILLE. — On the permanence of alkaloidal fluidextracts and tinctures. *Proc. Amer. Pharm. Ass.*, 1910, 58, p. 874-879.

Et de même, STEVENS (1), en 1911, assura qu'un Aconit bien conservé et de là, une préparation bien faite, ne doivent pas se détériorer. Si une altération se produit, elle peut être décelée par l'essai chimique : en particulier, après l'action de la chaleur, le poids de résidu soluble dans l'éther est augmenté, et les propriétés basiques diminuant, le dosage volumétrique met alors sur la voie de l'altération (?).

En 1916, HASKELL Ch. C. (2), après avoir montré que des teintures commerciales peuvent avoir des activités allant de l'ordre de 1 à 7 et s'étant demandé si ces variations étaient dues à une altération ou à l'inexactitude du procédé de dosage, fit l'expérience suivante : par la méthode de la 8^e U.S.P., il dosa les alcaloïdes de quatre teintures différentes, et il obtint ces chiffres :

	Aconitine	Essai physiologique (dose injectée rapportée au premier échantillon pris comme unité)
Préparation <i>a</i>	0,04298	1
— <i>b</i>	0,04183	1,97
— <i>c</i>	0,04183	1,97
— <i>d</i>	0,04093	7,27

Ainsi, quatre teintures semblant présenter la même valeur chimique, étaient en réalité, très différentes au point de vue physiologique. En outre, HASKELL pensa que, les préparations pharmaceutiques faites avec de l'alcool de titre élevé ne se détériorant généralement pas rapidement, l'Aconit n'échappait pas à cette règle.

Mais c'est surtout à SWANSON et à ses collaborateurs que l'on doit une étude systématique de ces variations

(1) STEVENS. — The assay of aconite. *Pharm. Journ.* (4), 1911, 33, p. 33.

(2) HASKELL. — The quality of tincture of aconite. *Amer. Drugg. and Pharm. record*, 1916, 64, p. 129.

d'activité. En particulier, SWANSON et WALTERS (1), par les faits suivants, montrèrent une diminution d'activité des teintures :

A. — TEINTURES D'ACONIT U.S.P.

Dates	Essai biologique standard 0,00040	Essai chimique standard 0,50 o/o	Essai biologique 2-15-20
4-26-17	0,00020	0,057	moins de 13 ° o
11-14-18	0,00075	0,030	moins de 10 ° o

Pour les extraits fluides, l'altération est encore plus sensible.

B. — EXTRAIT FLUIDE D'ACONIT U.S.P.

Dates	Essai biologique	Essai chimique	Essai biologique 2-15-20	o/o de l'essai biologique
4-26-19	0,000 065	0,48	0,000 080	80
4-23-18	0,000 025	0,47	0,000 090	29
4-10-17	0,000 025	0,56	0,000 150	17

Cette altération se vérifie aussi sur l'Aconitine en solution alcoolique à 70c, mais elle semble ne plus se produire en milieu alcoolique acétique : les solutions se conserveraient ainsi pendant plus de trois ans. Pour cette vérification, ces auteurs préparèrent des teintures selon l'U.S.P. Un lot fut conservé tel quel, un autre fut additionné d'acide acétique dans la proportion de 2 % et un troisième, d'acide chlorhydrique dans la proportion de 0,10 %.

L'essai chimique ne révéla que très peu de variation, mais l'essai physiologique fit apparaître une diminution de 10 à 11 %.

(1) SWANSON et WALTERS. — The standardization and stabilization of aconite preparations. *Journ. Amer. Pharm. Assoc.*, 1923, 12, p. 957-963.

Lot N° 1, préparé selon la méthode de l'U.S.P., sans aucune addition.

	DATES	Essai biologique o/o	Essai chimique o/o	DATES	Essai biologique o/o	Essai chimique o/o
Teinture n° 1.....	11-20-20	181	84	11-28-21	13	74
— 4.....	11-20-20	333	132	11-18-21	43,6	132,8
— 7.....	6-12-21	100	100	11-18-21	12	100

*Lot N° II, préparé selon la méthode de l'U.S.P.
avec 2 % d'acide acétique ou 0,10 % d'acide chlorhydrique.*

	DATES	Essai biologique o/o	Essai chimique o/o	DATES	Essai biologique o/o	Essai chimique o/o	DATES	Essai biologique o/o
Teinture n° 3.	11-20-20	181	84	12-25-22	93	»		
— 5.	11-20-20	333	132	12-25-22	266	»	11-20-23	228
— 8.	16-12-21	128	100	12-25-22	114	»	1- 2-23	94

*Lot N° III, préparé selon la méthode de l'U.S.P.
avec 2 % d'acide acétique.*

	DATES	Essai biologique o/o	Essai chimique o/o	DATES	Essai biologique o/o	Essai chimique o/o	DATES	Essai biologique o/o
Teinture n° 3.	11-20-20	166	82	12-25-22	166	»	11-15-23	160
							6-18-24	150
— 6.	11-20-20	335	158	12-25-22	333	»	11-29-23	320
							6-10-24	310

L'année suivante, SWANSON (1) confirma les résultats précédents quant à l'action favorable des acides en milieu alcoolique et il montra que l'acide ajouté au liquide final

(1) SWANSON. — *Loc. cit. Journ. Amer. Pharm. Assoc.*, 1924, 13, p. 1108-1112.

résultant de la percolation ou à l'alcool servant à la percolation, semble conserver toute leur activité aux teintures préparées avec de l'alcool à 70c. *La stabilité serait donc surtout fonction de la concentration en ions H.*

Les teintures dont le pH est compris entre 5 et 5,6 semblent s'altérer très rapidement, c'est pourquoi en 1927, SWANSON et HARGREAVES (1) conseillèrent de donner aux teintures ou extraits fluides un pH non inférieur à 3 ou même 2,5. La quantité nécessaire d'acide à ajouter pour assurer ce pH doit dépendre, évidemment, de la quantité d'alcaloïdes et de matières inertes contenues dans chaque échantillon.

En 1925, GORIS et MÉTIN (2), indépendamment de SWANSON et WALTERS, constataient l'altération rapide d'une solution d'azotate d'aconitine, c'est ainsi qu'une solution dont la dose minimum mortelle pour le cobaye était de 7 unités (0,000.000.07) par gramme d'animal (3), fut essayée pendant un certain temps : les auteurs remarquèrent que la toxicité diminuait de semaine en semaine.

Après 1 semaine, la dose minimum mortelle était de 9 unités

— 2 —	—	—	10 —
— 3 —	—	—	13 —
— 4 —	—	—	18 —
— le 4 ^e mois —	—	—	45 —

Sur les conseils de M. le Professeur GORIS, nous avons voulu voir jusqu'où pouvait aller cette altération, et si le facteur lumière ne jouait pas un rôle important dans l'hydrolyse progressive des solutions aqueuses d'azotate d'aconitine.

(1) SWANSON et HARGREAVES. — The stabilization and standardization of aconite preparations. *Journ. Amer. Pharm. Assoc.*, 1927, 16, p. 296-301.

(2) A. GORIS et M. MÉTIN. — Altération des solutions d'aconitine au cours de leur vieillissement. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, 180, p. 1443-1445.

(3) GORIS et MÉTIN admettent que l'unité toxique de l'aconitine pour le cobaye est de l'ordre du cent-millième de milligramme par gramme et la dose mortelle comprise entre 6 et 7 unités.

Nous avons préparé, le 7 juillet 1926, une solution d'azotate d'aconitine au 1/1.000 calculée en Aconitine. Nous en avons fait deux parts : une destinée à être conservée à la lumière du laboratoire, l'autre à l'obscurité. A partir de ces solutions-mères, nous avons fait des dilutions au 1/10.000 et au 1/100.000 que nous avons conservées dans des conditions identiques. Ce même jour, la D.M.M. de ces solutions était, pour un cobaye, de 7 unités (0,000.000.07).

Après trois mois et demi, des expériences furent faites, en voici les résultats :

Solutions conservées à la lumière	Solutions conservées à l'obscurité
7 unités : néant	7 unités : néant
35 unités : malade	8 unités : néant
38 unités : mort	15 unités : mort

Nous laissâmes alors, presque trois années nos solutions dans les mêmes conditions d'ombre et de lumière, et en mai 1929, nous reprîmes nos essais; voici les résultats obtenus :

<i>Lumière.</i>			<i>Obscurité.</i>		
DATES	Unités	EFFET	DATES	Unités	EFFET
25 Mai	14	néant.	25 Mai	10	intoxiqué.
27 Mai	50	très malade, a survécu.	27 Mai	25	très malade, diarrhée a survécu.
29 Mai	55	a survécu.	—	28	malade, a survécu.
31 Mai	58	mort.	—	30	mort.
—	60	mort.	—	35	mort.

De cette nouvelle étude, il résulte une fois de plus que seul le dosage physiologique permet de suivre et de déceler, sans contradiction possible, une altération par vieillissement.

En 1886, LYONS (1) avait déjà signalé que l'imprécision

(1) LYONS A.B. — *Manual of Pharmaceutical assays*, Detroit, 1886, p. 52.

de l'essai chimique, appliqué aux préparations pharmaceutiques d'Aconit, était universellement reconnue; et, en 1908 (1), commentant le procédé d'essai de l'U.S.P. (8^e édition, 1906) pour l'Aconit, il regrettait la décision du Comité de révision de la Pharmacopée, refusant d'admettre l'essai physiologique. En outre, il faisait remarquer combien le dosage chimique serait inexact tant que l'on ne pourrait s'assurer que le produit dosé est bien effectivement de l'Aconitine et non des alcaloïdes inertes. De plus, il considérait comme étroitement liées, la méthode par pesée et la méthode volumétrique : un trop grand écart entre ces deux techniques étant déjà une présomption de la présence de l'Aconine et de la Benzoylaconine; en effet, le poids moléculaire de ces bases est très différent :

Aconitine	645
Benzoylaconine	603
Aconine	499

C'est ainsi qu'un poids d'Aconine exigera un volume plus grand de solution titrée qu'un même poids d'Aconitine, et comme ce volume sera multiplié par le coefficient 0,00645 (correspondant à l'Aconitine), le chiffre donné sera beaucoup trop fort.

Le dosage gravimétrique donne le poids des alcaloïdes solubles dans l'éther, et ce poids est évalué en Aconitine : la divergence des deux résultats pourra donc, jusqu'à un certain point, mettre sur la voie des altérations.

Quant à STEVENS (2), en 1903, il préférerait nettement, à la méthode physiologique la méthode chimique qui lui fournissait des résultats bien plus exacts. Il reconnut néanmoins que la méthode chimique est inapplicable aux préparations chauffées telles que les extraits. Comme nous l'avons déjà vu, il employait comme réactif biologique,

(1) LYONS A.B. — The aconite assay of U.S.P., VIII. *Amer. Drugg. and Pharm. Record*, 1908, 52, p. 89.

(2) STEVENS. — *Loc. cit.*

d'une part la grenouille, d'autre part la méthode de SQUIBB dont les conclusions, disait-il, étaient plus comparables à celles de la méthode chimique.

Malgré les nombreux travaux de cette époque préconisant le dosage physiologique, quelques années plus tard, STEVENS (1) confirma son premier mémoire. Il constata simplement que le dosage chimique, tout en n'étant pas, en effet, scientifiquement exact, l'est cependant d'une façon suffisante; il ajoutait que l'éther seul doit être employé pour l'extraction des alcaloïdes et non le mélange éther-chloroforme qui dissout beaucoup de bases inertes. Quant à la méthode de SQUIBB, ne pouvant servir qu'à établir des comparaisons, elle lui parut inapplicable en tant que méthode standard.

En proposant l'essai chimique complété par un essai physiologique (méthode de SQUIBB), SCOVILLE (2) émit une opinion très sage. Pour le dosage chimique, lui aussi recommandait de contrôler le dosage titrimétrique à l'aide du dosage par pesée. Dans une seconde note, il abandonna la méthode de SQUIBB pour conseiller l'essai sur le cobaye : détermination de la D.M.M. dont le standard à admettre serait compris entre 0,0004 et 0,0005 d'Aconit. Avec l'échantillon à essayer, il prépara un extrait fluide à parties égales et injecta à deux cobayes une quantité correspondant à 0,0004, et, à deux autres cobayes, 0,0005. Si la première paire ne mourait pas, la dose était trop faible. Si les deux paires mouraient la dose était trop forte. Il fallait, pour avoir un résultat convenable, que la seconde paire mourût et que la première survécût.

Nous avons déjà vu que PEARSON (3), puis Wood (4) critiquaient le pourcentage en alcaloïdes totaux et préco-

(1) STEVENS. — *Loc. cit.*

(2) SCOVILLE W. — Some comments on the alkaloidal assay methods, of U.S.P. *Proceed. Am. Pharm. Assoc.*, 1910, 58, p. 820.

(3) PEARSON W.A. — The Pharmacopoeia from the view point of an analytical worker. *Am. Journ. Pharm.*, 1908, 80, p. 75.

(4) Wood. — Report of Committee on physiological assay. *Proceed. Am. Pharm. Assoc.*, 1910, 58, p. 940-941.

nisaient le dosage physiologique; le premier, admettant que l'essai de SQUIBB a une certaine valeur, en demandait une étude approfondie; le second, trouvant l'essai de SQUIBB insuffisant, conseillait la méthode au cobaye.

ROTH (1), en 1913, à la suite d'ANSELMINO (2), GANE et WEBSTER (3), publia que le dosage chimique préconisé par la 8^e édition de la Pharmacopée des Etats-Unis (dosage titrimétrique après déplacement par l'ammoniaque et extraction par l'éther, puis titrage en présence d'hémathoxyline) ne mesure pas la valeur physiologique de la teinture et recommanda l'emploi de la méthode de SQUIBB, ou de préférence, celle de la D.M.M. pour le cobaye.

Un travail très complet d'HASKELL et ZIRKLE (4) amena aux mêmes conclusions. Nous ne pouvons mieux faire que de rapporter ces expériences :

Quatre teintures furent dosées suivant la méthode de l'U.S.P., 8^e édition.

Préparations	Teneur en aconitine
—	—
Teinture A.....	0,04298 %
— B.....	0,04183 %
— C.....	0,04183 %
— D.....	0,04093 %

Pour l'essai physiologique, ils adoptèrent le cobaye pour la détermination de la dose mortelle; les teintures furent diluées dans trois fois leur poids de solution saline et ils injectèrent, à chaque animal, un volume calculé d'après son poids.

(1) ROTH. — *Loc. cit. Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1913, 2, p. 705-712.

(2) ANSELMINO. — *Chem. and Drugg.*, 1910, 75, 11, p. 892 in HASKELL et ZIRKLE, *loc. cit.*

(3) GANE et WEBSTER. — *Drugs and topics*, 1909, 24, p. 340 in HASKELL et ZIRKLE.

(4) HASKELL et ZIRKLE. — *Loc. cit. Am. Journ. Pharm.*, 1915, 87, p. 537-540.

Pour obtenir la mort, il fallut, pour le cobaye et pour le chat, par gramme d'animal :

	Cobayes	Chats
Teinture A.....	0 cc. 00033	0 cc. 00041
— B.....	0 cc. 00065	0 cc. 00172
— C.....	0 cc. 00065	0 cc. 00230
— D.....	0 cc. 00240	0 cc. 00388

La dose mortelle variait donc beaucoup avec les teintures; les toxicités extrêmes sont marquées par les teintures A et D, cette dernière étant sept fois plus toxique que la première pour le cobaye, et, pour le chat, environ neuf fois (N.B.), cependant que le dosage chimique était presque comparable : 0,04298 et 0,04093 (soit une différence de 5 % environ).

A la suite de tous ces travaux, la 9^e édition de l'U.S.P. (1916) reconnut officiellement la valeur de l'essai physiologique et le prescrivit pour l'essai de l'Aconit (extrait fluide, teinture, extrait sec), en gardant toutefois le dosage chimique avec déplacement par l'ammoniaque, dissolution par l'éther et titrage en présence de cochenille. Voici les chiffres qu'elle exige :

Racine d'Aconit (on fait un extrait fluide que l'on titre comme le suivant) :	
Extrait fluide	0 mgr. 00004
Teinture	0 mgr. 0004
Extrait sec	0 mgr. 00001

N.-B. — Cette discordance encore plus grande, révélée par la méthode au chat de HATCHER, a été étudiée plus tard par HASKELL (1), HASKELL et THOMAS (2) et JAUREGUI (3).

(1) HASKELL. — The quality of tincture of aconite. *Am. Drugg. and Pharm. Record*, 1916, 64, p. 129.

(2) HASKELL et THOMAS. — *Loc. cit. Am. Journ. Pharm.* 1916, 88, p. 3-7.

(3) JAUREGUI. — *Loc. cit. Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1927, 16, p. 1045-1052.

Ces doses sont injectées sous la peau de l'abdomen, à des cobayes de 250 à 350 grammes qui sont examinés au bout de 12 heures.

Ensuite DOHME (1), en 1921, montra, d'une façon indiscutable que l'essai chimique ne peut donner des résultats précis puisqu'aucune méthode de précipitation ou de dissolution ne peut séparer intégralement l'Aconitine de ses produits d'hydrolyse. Ainsi, en traitant les alcaloïdes, préparés séparément au laboratoire, il constata qu'après un mélange, l'éther entraîne toujours une certaine quantité de produits basiques (Aconine) primitivement insolubles dans l'éther.

Enfin, SWANSON et WALTERS (2) prouvèrent à nouveau, en 1923, que la méthode chimique est inacceptable.

C'est pourquoi, en 1926, la 10^e édition de l'U.S.P. modifiant légèrement le texte de l'édition précédente, supprima le dosage chimique et adopta définitivement et uniquement le dosage physiologique.

(1) DOHME. — *Loc. cit.*

(2) SWANSON et WALTERS. — *Loc. cit.*

DEUXIEME PARTIE

CHAPITRE I

Protocole expérimental

Ayant maintenant résumé, un peu sommairement parfois, les recherches nombreuses relatives à l'étude de l'Aconit et de ses préparations, et avant d'entrer dans le détail de nos expériences personnelles, nous croyons devoir indiquer les méthodes que nous avons adoptées et comment nous en exprimerons les résultats.

Dans toutes ces recherches, nous avons mené parallèlement le dosage chimique et le dosage physiologique.

1° Dosage chimique.

Nous nous sommes servie de la méthode de dosage du Codex français. C'est une méthode gravimétrique, comportant la mise en liberté des alcaloïdes par l'ammoniaque, leur dissolution dans l'éther seul, leur purification par passage dans l'acide azotique au 1/10 et leur précipitation de cette solution par l'acide silicotungstique à 5 %, filtration, lavage, puis calcination du précipité obtenu et pesée du résidu.

Deux petites modifications ont été apportées au mode opératoire indiqué par notre Pharmacopée : elles concer-

nent l'épuisement de la solution étherée d'alcaloïdes et le lavage du précipité de silicotungstate, les voici :

a) Des solutions étherées d'alcaloïdes réunies dans une ampoule à décantation, on reprend les alcaloïdes au moyen d'acide azotique au 1/10, puis on doit — d'après le Codex — laver 4 fois à l'eau distillée; aux trois premiers lavages, nous ajoutons quatre, puis trois et enfin deux gouttes de cette même dilution azotique, seul le quatrième lavage se fait à l'eau distillée, sans aucune addition.

b) Le précipité, au lieu d'être lavé à l'eau pure, comme l'indique le Codex, est lavé à l'eau azotique à 36 %, jusqu'à ce que l'eau de lavage ne précipite plus une solution d'alcaloïdes (Quinine, Cocaïne, Strychnine). La limite de sensibilité étant de 1 pour 200.000. En général, nous arrêtons le lavage à 250 c.c. Nous avons pu, en effet, constater que des lavages prolongés donnaient toujours un léger louche avec les solutions alcaloïdiques, du fait d'une légère dissociation du silicotungstate, ce qui entraînait une perte en précipité, d'où en alcaloïde.

2° *Dosage physiologique.*

Après avoir comparé les résultats obtenus par l'emploi des différents animaux ayant servi aux expériences touchant l'Aconit et remarqué la constance de ceux rapportés par MÉTIN, nous avons choisi la méthode de la D.M.M. (1) pour le cobaye comme étant la plus sensible. Nous ajoutons qu'elle nous paraît aussi devoir être la plus commode à pratiquer par le pharmacien : le cobaye étant un animal facile à se procurer, les expériences n'offrant ni danger ni difficultés, les résultats enfin étant toujours très nets.

Le standard employé par nous est un azotate d'aconitine de la marque Poulenc, échantillon dont s'était déjà servi MÉTIN. Comme lui, nous avons adopté la D.M.M. = 0.000.000.07, quoique, en fait, la dose soit comprise entre

(1) D.M.M. = Dose minimum mortelle.

0,000.000.06 et 0,000.000.07, soit, 0,000.000.065. Des raisons pratiques nous ont fait choisir ce chiffre de 0,000.000.07 : c'est qu'en effet, pour obtenir un résultat rigoureux présentant avec les nôtres une différence en somme très peu importante, il nous eût fallu multiplier bien inutilement les sacrifices de cobayes.

Moyen d'exprimer nos résultats.

Pour indiquer nos résultats, plusieurs façons, également séduisantes, s'offraient à nous.

D'abord, la méthode de la Pharmacopée des Etats-Unis, qui est basée sur la quantité d'Aconitine contenue dans un volume déterminé de teinture. Elle exige en effet qu'un volume de 0,000.35 à 0,000.45 c.c. de teinture au 1/10, soit mortelle pour un gramme de cobaye.

Puis celle de GITHENS et WANDERKLEED (1). Ceux-ci proposent d'employer une notation analogue à celle qui indique la force des toxines microbiennes, c'est-à-dire en comptant le nombre d'unités toxiques (U.T.) contenues dans 1 c.c. ou 1 gr. du standard; l'unité étant, en l'occurrence, la quantité d'Aconitine nécessaire pour tuer un gramme de cobaye. Ils pensent que cette façon de s'exprimer parlerait mieux à l'esprit.

	Droque U.T. dans 1 gr.	Extr. fluide U.T. dans 1 cc.	Teinture U.T. dans 1 cc.	Extr. sec U.T. dans 1 gr.
Feuilles d'aconit....	16.000	16.000	1.600	66.600
Racines d'aconit....	25.000	25.000	2.500	125.000

Enfin, plus facile pour l'exposé des résultats, la méthode de GORIS et MÉTIN (2), dans laquelle on compte en unités toxiques en supprimant la notation décimale.

(1) GITHENS et WANDERKLEED. — *Loc. cit. Proceed. Amer. Pharm. Assoc.*, 1910, 58, 913-922.

(2) A. GORIS et M. MÉTIN. — *Loc. cit. C. R. Ac. Sc.* 1925, 180, 1132-1134.

C'est à ce dernier procédé que nous nous sommes ralliée.

Avec GORIS et MÉTIN, nous admettons donc que l'unité toxique pour l'*Aconitine base* est de l'ordre du centième de millième de milligramme par gramme de cobaye, et la *dose mortelle* de 7 unités (0,000.000.07).

On peut même étendre cette unité toxique aux dérivés de l'Aconitine (Benzoylaconine ou Aconine) et l'on verra qu'ainsi la D.M.M., pour la Benzoylaconine sera de 1.400 à 1.500 unités, soit 0,000.014 et, pour l'Aconine de 14.000 à 15.000 unités, soit 0,000.14 d'après CASH et DUNSTAN (1); et même de 3.500 et 35.000 unités d'après SWANSON (2).

Cette façon d'exprimer l'activité physiologique donne immédiatement une notion exacte du rapport de la toxicité qui existe entre ces différents produits.

Ceci étant bien précisé, voici la technique que nous suivons : la teinture est d'abord dosée chimiquement et nous en exprimons le résultat en Aconitine. Nous savons très bien que ce chiffre ne représente pas uniquement de l'Aconitine, mais, supposant que les alcaloïdes sont de l'Aconitine pure, nous injectons au cobaye une quantité de préparation correspondant à 7 unités par gramme de cobaye ($0,000.000.07 \times$ poids du cobaye). Si l'animal ne meurt pas, nous en prenons d'autres qui reçoivent respectivement : 8, 10, 12... etc., unités, jusqu'à l'obtention d'une mort. Ce premier résultat acquis, pour serrer l'expérience de plus près, nous injectons autant de cobayes qu'il est nécessaire pour arriver à la dose mortelle exacte. C'est ainsi que la détermination précise de la D.M.M. (3) nous a demandé le sacrifice de 15 à 20 cobayes.

Naturellement, moins ce chiffre d'unités toxiques sera

(1) CASH et DUNSTAN. — *Loc. cit.*

(2) SWANSON. — *Loc. cit.*

(3) Il est bien entendu que, dans la pratique journalière, on peut éviter cette dépense exagérée d'animaux. Nous verrons comment l'on peut, avec un ou deux cobayes seulement, faire un essai convenable de teinture d'Aconit.

élevé, plus il nous montrera que le produit dosé est riche en Aconitine et plus nous serons convaincue qu'un seul dosage peut vraiment seconder le praticien : le dosage physiologique.

Dans nos résultats, nous n'avons pas voulu mentionner tous les essais physiologiques faits sur le cobaye, nous ne donnerons que le résultat correspondant à la D.M.M., mais il est bien entendu que pour chaque détermination, nous avons utilisé un grand nombre d'animaux. Rapporter ici tous ces chiffres n'aurait servi qu'à encombrer le texte de notre travail sans grand avantage pour sa clarté.

CHAPITRE II

Racine d'Aconit

Maintenant que nous avons exposé en détail la technique des procédés de dosages chimique et physiologique, et que nous avons envisagé les conséquences qui pouvaient découler des résultats obtenus, nous allons aborder quelques-uns des points qu'il nous a paru intéressant d'étudier.

Dans ce deuxième chapitre, nous examinerons la racine d'Aconit, c'est-à-dire la matière première la plus importante des préparations d'Aconit, puis, dans un troisième et quatrième chapitre, les préparations : teinture et alcoolature de feuilles, enfin dans un dernier chapitre : l'extract d'Aconit.

Pour l'étude de la racine, un point nous a paru, tout d'abord, très important à élucider. Existe-t-il des Aconits ayant des actions physiologiques si différentes les unes des autres et telles que les auteurs les ont parfois signalées ? Ces différences sont-elles le fait du climat ou du sol, ou avons-nous affaire à des races d'Aconit plus ou moins toxiques, comme il y a des plantes plus ou moins riches en sucre, en substances amylacées ou glucosidiques ?

Dans une note publiée en 1924, GORIS et MÉTIN (1) avaient indiqué qu'il y a parfois de grandes différences dans la teneur en alcaloïdes d'Aconits de diverses prove-

(1) A. GORIS et M. MÉTIN. — Variation de la teneur en alcaloïdes dans les racines d'Aconit. *Bull. Sc. Pharmac.*, 1924, 31, p. 330.

nances. Ainsi ont-ils trouvé, pour des Aconits des Pyrénées, les chiffres suivants :

Aconits de Payolle (altitude : 1.400 mètres)	
Tubercules florifères	0,296
— de remplacement	0,718
Aconits de la plaine d'Asté (altitude : 550 mètres)	
Tubercules florifères	0,149
— de remplacement	0,661

et pour ceux de l'Aisne :

Aconits des marais de La Fère-en-Tardenois	
Tubercules florifères	0,758
— de remplacement	2,971
Aconits des marais de Silly-la-Poterie	
Tubercules florifères	0,561
— de remplacement	2,219

Cet essai était d'autant plus intéressant que MÉTIN (1) constatait une très grande différence d'activité physiologique entre les teintures préparées avec les tubercules provenant de ces différents lieux.

Ces variations d'activité ne provenaient pas de la différence du taux des alcaloïdes, mais bien de l'action propre des alcaloïdes respectifs existant dans ces tubercules; les exemples que nous allons citer en apportent la preuve. Une teinture faite avec des Aconits pyrénéens titrait, en alcaloïdes totaux, 0,550 ‰, alors qu'une teinture faite avec des Aconits de Silly-la-Poterie, titrait 1,325 ‰ or, les doses toxiques respectives des alcaloïdes contenus dans ces teintures étaient, pour le cobaye :

19 unités (N.B.) pour la teinture d'Aconits pyrénéens.	
2.000 — — — — — des marais de l'Aisne.	

(1) M. MÉTIN. — Les variations de la teneur alcaloïdique de l'*Aconitum Napellus* L. *Thèse Doct. Un. Pharm. Paris*, 1925, p. 62.

N.-B. — Nous rappelons que l'unité toxique de l'aconitine est, pour le cobaye, de l'ordre du centième de millième de milligramme (0,000.000.01) par gramme d'animal. La dose toxique par gramme de cobaye, étant 7, équivaut à 0,000.000.07 (2).

(2) A. GORIS et M. MÉTIN. — Action préventive de l'Anthrone, vis-à-vis de l'Aconitine. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, 180, p. 1132-1134.

Les alcaloïdes de la teinture des Aconits des Pyrénées étaient donc environ trois fois moins toxique que l'Aconitine pure, et ceux des Aconits de Silly-la-Poterie, presque trois cents fois moins toxiques que l'Aconitine. La teinture faite avec les Aconits de l'Aisne était 100 fois moins active que celle obtenue avec les Aconits d'Asté, bien que sa teneur en alcaloïdes fut près de 2,5 fois plus grande.

Mais il importait de vérifier si l'activité physiologique aussi faible des Aconits de l'Aisne était bien due aux alcaloïdes. Il fallait s'assurer que, lors du dosage, l'acide silicotungstique n'entraînait pas de substances étrangères qui auraient augmenté le pourcentage en alcaloïdes totaux.

C'est pour la suite logique de cette étude de MÉTIX, que nous avons voulu extraire les alcaloïdes de tubercules récoltés dans les marais de l'Aisne; nous avons opéré de la façon suivante :

On épuise les tubercules de Château-Thierry par l'alcool à 70°. L'alcoolature est distillée dans le vide jusqu'à élimination de l'alcool. A la solution sirupeuse obtenue par concentration au bain-marie, on ajoute, à froid, un mélange de 250 c.c. d'éther et de chloroforme, dans la proportion volumétrique de 4 parties d'éther pour 1 de chloroforme. Après addition de 15 c.c. d'ammoniaque, on laisse en contact en agitant de temps en temps. La partie inférieure soutirée est épuisée deux fois et chaque fois avec 125 c.c. du mélange éthéro-chloroformique. On obtient ainsi environ 500 c.c. de liquide qu'on laisse en contact à peu près 12 heures avec du carbonate de potassium sec. Trois fois, la solution éthéro-chloroformique est reprise par l'eau chlorhydrique au millième et les solutions chlorhydriques réunies sont additionnées d'ammoniaque puis de mélange éther-chloroforme. Après trois épuisements, on sèche sur du carbonate de potassium anhydre. On filtre, on évapore et on obtient un résidu sirupeux qui est repris par *l'éther seul*. La solution éthérée, évaporée, est alors mise dans le vide sulfurique où elle se concrète en une matière pulvérulente grisâtre.

La poudre obtenue présente la caractéristique du

« test de SQUIBB », réaction typique de l'Aconitine : le picotement de la langue; de plus, la solution est légèrement amère. A partir de cette poudre, nous avons fait, par addition d'acide sulfurique et neutralisation par le carbonate de calcium, une solution aqueuse au millième, qui a servi à nos essais physiologiques.

Voici quelques-uns de nos chiffres :

Unités toxiques injectées	Résultat obtenu
73	survie
85	—
100	—
112	—
190	—
1111	—
1639	—
2000	mort

Ces expériences démontrent donc nettement que ces produits, titrés comme alcaloïdes, présentent bien certains caractères de l'Aconitine (test de SQUIBB), mais qu'ils ont néanmoins une toxicité très inférieure : environ 300 fois moindre. Il est intéressant de constater que ce chiffre est très voisin de celui obtenu par MÉTIN dans l'essai des teintures.

C'est en vue de déterminer si cette différence d'activité était le fait de conditions climatologiques et géographiques que MÉTIN avait eu l'idée de transplanter des Aconits pyrénéens dans les marais de la Fère-en-Tardenois (Aisne), et, réciproquement, des Aconits de ces marais, dans les Pyrénées, aux environs du col d'Aspin au pied de l'Arbizon, à une altitude de 1.850 mètres, au lieu désigné sous le nom de « La Lude ». Cette transplantation fut faite en 1924, par les soins de MÉTIN en ce qui concerne les Aconits des Pyrénées dans les marais de la Fère-en-Tardenois, et par M.-T. BOUGET pour les Aconits de Château-Thierry dans le site de La Lude.

Après trois ans on procéda à l'arrachage; il y avait donc eu un cycle complet de végétation : les premiers

tubercules transplantés ayant donné un tubercule de remplacement né dans le nouveau lieu et de ce dernier tubercule étant nés à leur tour des fleurs et un autre tubercule de remplacement. On peut ainsi admettre que les derniers pieds arrachés étaient de formation climatologique et géologique nouvelles.

Les Aconits des Pyrénées, croissant sous de jeunes arbres, dans un sol sablonneux, s'étaient parfaitement acclimatés dans les marais de l'Aisne; les tiges atteignaient presque deux mètres de hauteur, comme les Aconits indigènes; on en récolta les tubercules le 26 septembre 1926.

Quant aux Aconits des marais de l'Aisne, ils ne s'étaient pratiquement pas acclimatés au sol pyrénéen. Récoltés fin août 1926, les tiges ne mesuraient pas plus de 30 centimètres de hauteur, et leur aspect chétif tranchait nettement avec les Aconits locaux, très vigoureux, hauts de 1 mètre à 1 m. 50. Leurs tubercules avaient la grosseur d'une noisette et portaient de très nombreuses radicules. Visiblement, ces plantes avaient vécu sur les réserves des tubercules anciens et il est fort probable qu'elles étaient à la fin de leur végétation. (N.-B.)

A partir de ces tubercules nous avons préparé des teinture au 1/10^e, selon le Codex de 1908.

Titrees chimiquement et physiologiquement, en janvier-février 1927, ces teintures nous donnèrent, respectivement, les résultats que nous rapportons :

	Dosage chimique %	Dosage physiologique des alcaloïdes des teintures (par gr. de cobaye)
Teinture N° I (Aisne)	0,56	55 unités
— N° II (Pyrénées)	0,19	7 —
— N° III (Pyrénées-Aisne)	0,30	40 —
— N° IV (Aisne-Pyrénées)	0,54	32 —

N.-B. — Tant dans les Pyrénées que dans l'Aisne, nous avons personnellement récolté, à la même époque, des tubercules d'Aconit indigènes, voisins de ceux qui avaient été transplantés.

Ainsi nous voyons que l'activité des Aconits des Pyrénées, transplantés dans les marais de l'Aisne, a diminué : de 7 unités la D.M.M. est passée à 40 unités alors que la teneur en alcaloïdes totaux a subi une augmentation.

Le fait est moins net pour les Aconits de l'Aisne transplantés dans les Pyrénées où ils se sont mal acclimatés : leur D.M.M. est passée de 55 à 32 unités.

Il ne s'agit donc pas d'une « race » spéciale d'Aconit, à composition chimique particulière, mais bien plutôt de variations dûes aux conditions climatologiques et géologiques. Les Aconits que nous avons récoltés en 1926 étaient d'activité beaucoup plus grande que ceux récoltés dans les mêmes lieux par MÉTIN.

Il semble maintenant certain que des Aconits de provenances diverses, ou de même provenance mais d'années différentes, peuvent présenter de très grandes divergences quant à la nature des alcaloïdes formés, et, par suite, posséder des activités physiologiques très dissemblables.

Il était rationnel, après cet essai, de rechercher s'il n'y avait pas une différence d'activité entre le tubercule florifère et le tubercule de remplacement d'un même échantillon d'Aconit, autrement dit, si les alcaloïdes étaient bien de même nature dans les deux tubercules. De plus, il était intéressant, au point de vue biologique, de voir si dans le jeune tubercule il n'y avait pas prédominance d'aconine ou de benzoylaconine; car dans ce cas la formation de l'aconitine semblerait provenir de l'éthérification du noyau fondamental de l'aconine.

C'est pourquoi nous avons préparé trois séries d'expériences.

Dans la première, nous avons étudié l'activité des alcaloïdes dans les tubercules florifères et dans ceux de remplacement, au stade où ces deux sortes de tubercules, à peu près équivalents, sont en plein épanouissement, c'est-à-dire à l'époque de la floraison.

Dans la seconde, nous avons comparé l'activité des deux tubercules, alors que les tubercules de remplacement étaient à un stade très peu développé.

Enfin, nous avons recherché si la dessiccation ne produisait pas une transformation de l'aconitine.

Première série d'expériences

Deux teintures ont été préparées, le 12 novembre 1927, avec des tubercules récoltés de la façon suivante : des plantes arrachées avec le plus grand soin, on a choisi celles dont les tubercules étaient encore adhérents. Après lavage, ces deux tubercules ont été séparés et mis à sécher. La dessiccation étant arrivée au même point, on fit des teintures au 1/10 par percolation.

Avec les tubercules florifères, la teinture A titrait 0,53 ‰.

Avec les tubercules de remplacement, la teinture B titrait seulement 0,36 ‰.

Détermination faite de la D.M.M., nous trouvons que :

Pour les teintures A et B : la D.M.M. est, très exactement de 7 unités.

Ces chiffres sont une preuve que les alcaloïdes contenus dans les deux tubercules s'y trouvaient sous la même forme : à l'état d'aconitine, sans trace d'alcaloïdes peu actifs du groupe de l'aconine (aconine, benzoylaconine).

Deuxième série d'expériences

Nous avons fait une autre série d'expériences comparatives, à partir de tubercules de remplacement très jeunes et de tubercules florifères en voie de développement.

Des Aconits ont été arrachés dans la région de Gavarrie alors que le tubercule de remplacement commençait à se former, et que le tubercule florifère en pleine activité ne portait encore que des feuilles, sans trace de hampe florale. Les deux tubercules adhérents ont été lavés puis séparés.

On obtint, d'une part, 2 kgs 035 de tubercules, et

d'autre part, 65 grammes, ce qui montre bien la petitesse de ces tubercules de remplacement.

Après les avoir coupés en morceaux, on les mit alors à macérer dans leur poids d'alcool à 90°.

La macération alcoolique des tubercules florifères (E) titrait 0,59 % d'alcaloïdes totaux, et l'alcoolature des jeunes tubercules (F) 0,436 % — ce qui nous a paru normal.

Quant à la D.M.M., elle était de :

15/17 unités pour les gros tubercules,
17 unités pour les petits tubercules.

De ces expériences, on peut conclure que dans un même Aconit, les alcaloïdes se trouvent sous une forme semblable dans les deux tubercules, ce qui confère une activité identique aux produits obtenus avec ces échantillons; on peut donc, pour la préparation des teintures, employer indifféremment le tubercule florifère ou le tubercule de remplacement.

Troisième série d'expériences

Pour compléter ces recherches, nous nous sommes assurée que la dessiccation, faite convenablement, n'apportait aucune modification à l'activité de l'Aconit.

A cet effet, des Aconits ont été récoltés dans les mêmes régions que ceux étudiés précédemment, c'est-à-dire dans la région de La Lude.

Le lot reçu a été partagé en deux parties égales; l'une a été immédiatement coupée en morceaux et traitée par l'alcool à 95°; l'autre a été mise à sécher, puis pulvérisée grossièrement. Cette poudre a été additionnée d'une quantité d'eau égale à celle qui s'était évaporée au cours de la dessiccation, et d'une quantité d'alcool égale à celle employée pour la macération précédente. En opérant

ainsi, les deux produits pouvaient être considérés comme identiquement préparés, et on avait :

Alcool à 95°.....	500	Teinture C
Tubercules <i>frais</i> d'Aconit....	275	
Eau distillée.....	110	} = 275 Teinture D
Tubercules <i>secs</i> d'Aconit....	165	
Alcool à 95°.....	500	

Les macérations achevées, puis filtrées, le dosage chimique des teintures nous donna :

Teinture C (tubercules frais).....	1,10 %
— D (tubercules secs).....	1,23 %

dont les D.M.M. furent :

Teinture C.....	mort avec 10 unités
— D.....	d° d° d°

Les expériences paraissent concluantes : la dessiccation faite convenablement n'altère pas sensiblement les principes actifs de l'Aconit.

Ainsi donc, de tous les facteurs qui semblaient devoir influencer sur la variation de l'activité de l'Aconit, nous n'en retiendrons que deux : le facteur climatologique et le facteur géologique. L'âge des tubercules, leur dessiccation, le mode de traitement, à l'état frais ou à l'état sec, n'interviennent que très peu.

Par conséquent, la provenance de l'Aconit joue un rôle prépondérant. Comme il est difficile de fixer un lieu déterminé pour la récolte et que, d'autre part, des variations peuvent se produire suivant les années, on devra toujours s'assurer de la valeur de la matière première, soit par un essai direct (méthode de SQUIBB), soit par la préparation d'une teinture que l'on dosera chimiquement et physiologiquement.

CHAPITRE III

Teinture d'Aconit

Après l'examen de la matière première, c'est l'étude de la forme pharmaceutique la plus usitée : la teinture, qu'il nous a paru opportun d'envisager. La teinture d'Aconit doit titrer 0,50 ‰ d'alcaloïdes totaux; ce fait est important, puisque le Codex n'admet pas de teinture d'un titre inférieur. Toute préparation n'atteignant pas ce chiffre doit être rejetée sans même en faire l'essai physiologique, puisque sa teneur en aconitine serait insuffisante.

Cependant, en général, les nombreux dosages qui nous ont été communiqués par M. le Professeur GORIS, et ceux que nous avons faits le démontrent, la teneur en alcaloïdes est supérieure à 0,50 ‰ et la teinture doit être ramenée au titre voulu, par addition d'alcool à 70°. Voici les chiffres de quelques dosages :

0,67 ‰

1,32 ‰

1,36 ‰

0,65 ‰

0,61 ‰

0,62 ‰

0,83 ‰

0,66 ‰

0,65 ‰

0,39 ‰

0,72 ‰

0,66 ‰

0,40 ‰

Ils ne nous influenceront pas beaucoup; puisque nous savons maintenant combien l'analyse chimique seule est incapable de nous fixer sur la valeur des principes actifs de ces préparations, nous devons avoir recours au dosage physiologique.

Nous avons dit que notre technique consistait à faire d'abord un dosage chimique, puis à injecter la D.M.M. à un cobaye, comme si le chiffre trouvé mesurait uniquement cette quantité en aconitine pure. Notons que l'on trouve des Aconits qui donnent des teintures dont les alcaloïdes sont presque entièrement constitués par de l'aconitine. C'est ainsi qu'en Novembre 1926 nous avons étudié une teinture faite avec des tubercules de provenance espagnole, qui titrait 0,56 %, et qui tuait le cobaye à 7 unités exactement. Evidemment, toute teinture répondant à de pareilles exigences concernant le dosage chimique et le dosage physiologique, peut être livrée au commerce en toute confiance.

L'étude de la teinture aurait donc pu se clore avec celle de la racine si notre attention n'avait été mise en éveil par ce que nous savons du vieillissement des solutions d'aconitine; cette connaissance, jointe à celle des discussions rapportées dans la première partie de ce travail, nous ont ainsi amenée à nous poser ces questions : les teintures s'altèrent-elles ou gardent-elles leur activité ? Si leur titre baisse, la perte est-elle imputable au temps, à la lumière, à leur réaction acide ou alcaline ?

Comme nous l'avons déjà relaté, les opinions et les résultats sont très variables à ce sujet : STEVENS (1) assurant qu'une teinture bien préparée ne s'altère pas; SWANSON et WALTERS (2) démontrant par des chiffres que teintures et extraits fluides perdent de leur activité avec le temps.

A notre tour, nous avons désiré entreprendre une série

(1) STEVENS. — *Loc. cit.*

(2) SWANSON et WALTERS. — *Loc. cit.*

d'expériences en vue de confirmer ou d'infirmer les opinions de ces auteurs.

A cet effet, nous avons préparé une teinture avec des Aconits riches en principes actifs : elle titrait 0,76 % en alcaloïdes totaux; après dilution avec de l'alcool à 70°, elle donnait encore le chiffre de 0,56 % et tuait le cobaye à sept unités (0,000.000.07 par gramme de cobaye). C'est cette préparation qui fut mise en expérience en Novembre 1926.

Influencée par les affirmations de SWANSON et WALTERS touchant la perte d'activité des préparations d'Aconit, nous avons voulu voir si certains produits, tels que : acides, polyalcools, sucres, composés anti-oxygènes, auraient une action capable de stabiliser chimiquement les préparations galéniques. Et, pour éclaircir en même temps la question de l'influence de la lumière, une double série d'expériences a été préparée : des flacons de verre blanc, bouchant hermétiquement à l'émeri, ont été remplis, aussi complètement que possible, avec les solutions suivantes :

1. Acide acétique	20 gr.	teinture, Q. S. P.	1.000 gr.
2. — chlorhydrique	1 gr.	—	—
3. — benzoïque	10 gr.	—	—
4. — tartrique	10 gr.	—	—
5. — phosphorique	12 gr.	—	—
6. Glycérine	50 gr.	—	—
7. Saccharose	20 gr.	—	—
8. Hydroquinone	0,50	—	—
9. Teinture (flacon témoin).....			1.000 gr.

Pour éviter l'action de l'air, chacun des récipients a été coiffé soigneusement; une série a été laissée au laboratoire en pleine lumière, l'autre enfermée dans une armoire bien close.

Quelques mois plus tard, en Avril, Mai, Juin 1927, nous avons dosé ces teintures, chimiquement et physiologiquement. Les résultats ont été les suivants :

Nous ne donnons là, évidemment, que le résultat final de nos essais physiologiques, mais pour chaque teinture

nous avons fait des essais sur quatre ou cinq cobayes, afin de nous assurer que l'activité des préparations était bien celle que nous rapportons.

	Conservation à la lumière		Conservation à l'obscurité	
	Dosage chimique ‰	Dosage physiologique unités	Dosage chimique ‰	Dosage physiologique unités
Teinture témoin	0,63	7	0,63	7
Teinture + acide acétique	0,63	7	0,63	7
Teinture + acide chlorhydrique	0,63	10	0,65	7
Teinture + acide benzoïque ...	0,618	9	0,618	10
Teinture + acide phosphorique	(Dosage difficile à effectuer)			
Teinture + acide tartrique	0,61	6	0,63	6
Teinture + glycérine ...	0,626	7	0,61	7
Teinture + saccharose ..	0,62	7	0,62	7
Teinture + hydroquinone	0,58	10	0,59	10

Ainsi donc, après six mois de conservation, les teintures n'avaient presque pas varié quant à leur activité. Le chiffre total en alcaloïdes est légèrement supérieur à celui du début.

La conclusion nous ramenait à l'opinion de STEVENS, mais avons-nous bien conduit nos expériences ? Nous étions-nous placée exactement dans les conditions de la pratique de l'officine ? Non. En effet, le pharmacien qui conserve sa teinture dans l'armoire aux poisons, n'a pas toujours un flacon à l'abri de l'air et exactement rempli ; de toute nécessité, il fallait laisser les teintures dans ces nouvelles conditions. Étudiées à nouveau une année après, en Avril, Mai, Juin 1928, c'est-à-dire dix-huit mois après leur préparation, nous obtînmes :

	Conservation à la lumière		Conservation à l'obscurité		Conservation	
	Dosage chimique	Dosage physiol.	Dosage chimique	Dosage physiol.	à la lum.	à l'obs.
	%	unités	%	unités	pH	
Teinture témoin	0,69	10	0,69	10	5,19	5,36
Teinture+acide acétique	0,70	7	0,69	7	4,35	4,31
Teinture+acide chlorhydrique	0,68	7	0,68	7	4,7	3,8
Teinture+acide benzoïque ...		10		10	5,22	5,17
Teinture+acide phosphorique		(Difficile à faire)			2,6	2,6
Teinture+acide tartrique	0,66	7	0,68	7	3,3	3,59
Teinture+ glycérine ...	0,69	7	0,68	7	5,8	4,6
Teinture+ saccharose...	0,66	7	0,66	7	5,5	5,4
Teinture+ hydroquinone	0,68	7	0,68	7	5,43	5,48

Ainsi donc, la teinture d'Aconit a varié assez peu dans son activité. Au bout de six mois, nous trouvons qu'elle tue le cobaye à la dose de 7 unités, comme au début de sa préparation, mais, après dix-huit mois, 10 unités sont nécessaires pour obtenir la mort de l'animal. A vrai dire, la diminution d'activité n'est pas très forte et même, pratiquement, on peut considérer que la teinture d'Aconit se conserve presque intacte pendant un an. Pris à la fin de l'expérience, le pH de cette teinture n'était cependant pas très bas; il était encore de 5,19 et 5,36, suivant que la teinture avait été conservée à la lumière ou à l'obscurité (N.-B.).

A part l'emploi de l'acide phosphorique dont la seule présence constitue une difficulté pour la méthode au silicostate, il est incontestable que l'addition des acides —

N.-B. — Le pH des solutions contenant les différents produits est indiqué dans le dernier tableau (le pH a été pris au potentiomètre).

sauf l'acide benzoïque — facilite la conservation des teintures; mais ce rôle conservateur est si restreint que l'on peut se demander s'il est bien nécessaire d'adopter une formule spéciale pour la préparation de la teinture d'Aconit, alors que l'on pourrait en demander au pharmacien le renouvellement annuel, comme on lui demande celui de la Digitale.

En conclusion, pour qu'une teinture d'Aconit soit active et capable de donner toute satisfaction au Corps Médical, on peut demander qu'elle titre 0,50 % d'alcaloïdes totaux et qu'elle tue le cobaye à la dose de 7 unités.

Pour la pratique courante, nous avons essayé de simplifier la technique. Prenons comme exemple une teinture titrant 0,50 % et voyons ce que nous devrions injecter à un cobaye de 400 gr. pour amener sa mort :

$$400 \times 0,000.000.07 = 0,000.028$$

c'est donc 28 millièmes de milligramme d'Aconitine, qu'il faudrait lui injecter. Si nous calculons le nombre de gouttes de teinture d'Aconit qui correspondra à cette quantité d'alcaloïdes, nous trouvons qu'il en faut un peu plus de 3 pour tuer ce cobaye.

En effet :

$$\begin{aligned} 1 \text{ gr. de teinture d'Aconit} &= 57 \text{ gouttes} \\ 1.000 \text{ gr. de teinture d'Aconit} &= 57.000 \text{ gouttes} \\ 57.000 \text{ gouttes contiennent } &0 \text{ gr. } 50 \text{ d'Aconitine} \end{aligned}$$

$$4 \text{ gouttes} = \frac{0,50 \times 4}{57.000} = 0,000.035$$

ce qui sera un peu fort, mais :

$$3 \text{ gouttes} = \frac{0,50 \times 3}{57.000} = 0,000.026$$

ce qui sera un peu faible.

En adoptant la dose de 4 gouttes pour le cobaye de

400 gr., soit 1 goutte pour 100 gr. d'animal, nous pouvons affirmer que nous sommes dans une bonne limite et qu'une teinture d'Aconit qui possèdera cette activité sera encore très satisfaisante. Dans la pratique, en effet, il ne faut pas pousser l'exactitude jusqu'à l'exagération, car on n'est pas toujours certain de trouver des teintures d'Aconit qui tueront le cobaye avec 7 unités exactement. La limite que nous laissons, en adoptant la dose mortelle de 1 goutte pour 100 gr. d'animal, est tout à fait rationnelle et correspond à une teinture dont la D.M.M. est égale à 9-10 unités.

Nous avons voulu vérifier cette donnée sur des teintures commerciales. Une teinture de la collection du laboratoire de pharmacie galénique titrait 0,50 % d'alcaloïdes. On l'a injectée à deux cobayes, pesant respectivement, 475 et 490 grammes, à la dose de 4 gouttes de teinture diluée dans 2 c.c. de soluté physiologique. Les deux animaux sont morts au bout de deux heures.

Une autre teinture, préparée à la Pharmacie Centrale des Hôpitaux et titrant 0,48 %, a été injectée à un cobaye de 425 grammes. Quatre gouttes diluées dans 2 c.c. de soluté physiologique l'ont tué en moins de deux heures.

Donc, en pratique — et d'une façon non rigoureusement exacte mais cependant très satisfaisante — on peut établir l'axiome suivant :

Une teinture d'Aconit sera active lorsqu'elle titrera, au minimum 0,50 % d'alcaloïdes totaux, et qu'elle tuera en l'espace de 6 heures, un cobaye sain à la dose de 1 goutte par fraction de 100 grammes d'animal, la teinture ayant été diluée dans l'eau physiologique, et l'injection pratiquée sous la peau du ventre.

CHAPITRE IV

Alcoolature de feuilles d'Aconit

L'alcoolature de feuilles d'Aconit est une préparation qui n'est plus guère employée qu'en France et au Portugal.

D'ailleurs, certains pharmacologues, et particulièrement M. RICHAUD (1), en se basant sur quatre dosages d'alcoolature de feuilles qui lui avaient donné comme teneur en alcaloïdes totaux, 0,409, 0,172, 0,139, 0,167 — avaient demandé la suppression de cette forme pharmaceutique.

Écoulant ces suggestions le Supplément du Codex a cru devoir fixer un titre ~~maximum~~ de 0,10 % en alcaloïdes totaux pour cette préparation. En réalité le titre des alcoolatures est toujours de beaucoup supérieur; les chiffres suivants, communiqués par M. GORIS, prouvent nettement l'insuffisance du taux du Codex, les voici :

0,22 %

0,38

0,36

0,28

0,19

0,13

0,20 % (tiges mélangées de feuilles).

0,37 % (tiges mélangées de feuilles).

(1) RICHAUD. — Sur la teneur en aconitine de quelques échantillons d'alcoolatures de feuilles d'Aconit, *Journ. Pharm. Chim.* (7^s), 1921, 23, p. 15.

et des dosages personnels nous ont donné :

0,38 ‰
 0,33
 0,34
 0,70 ‰ (chiffre obtenu avec des feuilles d'Aconit des
 Pyrénées de Juillet 1929).

Ces titres élevés, sauf dans un seul cas, exigent un ajustement de l'alcoolature que l'on doit diluer avec 2, 3, et même 4 fois son poids d'alcool à 70°. Les produits, ainsi obtenus n'ayant plus les mêmes caractères organoleptiques que l'alcoolature première, les industriels sont obligés de les colorer artificiellement pour leur conserver un aspect presque toujours identique.

D'autre part, comme les médecins prescrivent encore parfois de l'alcoolature de racines, il était intéressant de se rendre compte si les alcaloïdes qui se trouvent dans les feuilles étaient identiques à ceux de la racine, et s'il n'y avait pas une proportion plus grande de bases inactives.

Pour cette vérification, nous avons récolté des Aconits au moment de la floraison (Juillet 1929, aconits des Pyrénées, région de la Lude.) Les tubercules (florifères et de remplacement) ont été coupés en morceaux et mis à macérer dans leur poids d'alcool à 95°; les feuilles séparées des tiges ont été traitées de la même façon; les tiges sans les feuilles ont été contusées et mises également à macérer dans leur poids d'alcool à 95°. On a ainsi obtenu une alcoolature de racines, une alcoolature de feuilles et une de tiges. Ces trois produits dosés chimiquement et physiologiquement nous ont donné :

	Alcoolature de racines	Alcoolature de feuilles	Alcoolature de tiges
DOSAGE CHIMIQUE.....	1,17 0/00	0,70 0/00	0,68 0/00
DOSAGE PHYSIOLOGIQUE.....	9 unités	8 unités	7 unités

Ainsi donc, pour une même plante, les alcaloïdes des feuilles sont identiques à ceux de la racine et à ceux des tiges,

A la fin du second chapitre, nous avons vu qu'il n'y a pas grande différence dans la nature des alcaloïdes de la teinture et de l'alcoolature, lorsque les racines ont été séchées convenablement. Par contre, la quantité d'alcaloïdes totaux contenue dans les alcoolatures de racines est presque double de celle trouvée dans les teintures. Les chiffres suivants, communiqués par M. GORIS sont, à ce point de vue, très suggestifs :

0,98 ‰
0,94
1,65
0,96
1,02
1,15
1,11
1,14
1,46
1,31
1,39

Ces résultats n'ont rien qui puisse nous surprendre. L'alcoolature se fait à parties égales, c'est-à-dire, avec 1.000 parties de racines fraîches pour 1.000 d'alcool à 95°. Or, la racine renfermant au maximum 80 % d'eau, c'est, en réalité, 200 gr. de racines sèches que l'on traite par de l'alcool dont le titre final est de :

1.000 alcool à 95° + 800 eau de la plante == alcool à 58°.

La teinture se préparant au 1/10, l'alcoolature représente à peu près le double de la teinture.

CHAPITRE V

Extrait d'Aconit

L'extrait d'Aconit est une préparation assez peu employée (N.-B.). Il n'est plus inscrit que dans les Pharmacopées française et italienne. Le titre exigé par la première est de 1 % en alcaloïdes totaux et de 0,50 % par la seconde.

Après l'étude des différents facteurs d'altérabilité des préparations d'Aconit, il convenait de se demander si l'extrait représente bien une bonne forme pharmaceutique, si le chauffage que l'on doit faire subir à la solution alcoolique d'épuisement, d'abord pour distiller l'alcool, ensuite pour l'amener à consistance d'extrait, n'intervient pas pour en altérer le principe actif et en diminuer la valeur thérapeutique. Par conséquent, doit-on conserver ou supprimer cette préparation du Formulaire ?

Déjà STEVENS (2) avait assuré que la méthode chimique ne pouvait s'appliquer à des préparations longtemps chauffées, et DOHME (3), en 1908, avait montré par des

N.-B. — MM. ASTRUC, E. CANALS, R. BORDIER (1), qui ont dosé les extraits d'Aconit du Commerce français trouvent que ces préparations sont toujours conformes aux exigences du Codex.

(1) ASTRUC, E. CANALS, R. BORDIER. — Sur le dosage des alcaloïdes dans l'extrait d'Aconit. *Journ. Pharm. Chim.* (7), 1922, 25, p. 161-164.

R. BORDIER. — Dosages des principes actifs dans les drogues servant à obtenir quelques extraits alcooliques. *Th. Doct. Pharm.*, Montpellier, 1922.

(2) STEVENS. — A comparison on the chemical and physiological method of assay. *Pharm. Arch.*, 1903, 6, p. 50-55.

(3) DOHME. — *Loc. cit.*

exemples que certains extraits d'Aconit peuvent être 5.000 fois plus actifs que d'autres.

Il nous fallait, à notre tour, vérifier ces affirmations; justement à la Pharmacie Centrale des Hôpitaux, un extrait dont la préparation remontait à plusieurs années, était conservé dans de bonnes conditions; mais M. GORIS ne pouvait l'utiliser qu'après vérification de sa valeur thérapeutique. Or, ce produit qui titrait 1,20 % d'alcaloïdes totaux était à peu près dépourvu d'activité physiologique.

Devant ce fait, nous nous sommes procurée des extraits d'Aconit du commerce; six échantillons de provenance différente furent titrés chimiquement et essayés physiologiquement. Sur ces six échantillons, deux étaient de préparation récente, et l'un d'eux avait la même origine commerciale que l'extrait de la Pharmacie Centrale des Hôpitaux, préparé en 1923. Pour les cinq autres, nous n'avons pu avoir aucun renseignement, ceci n'avait d'ailleurs qu'une importance tout à fait secondaire.

Voici les résultats trouvés :

I. — Extrait mou, préparé spécialement par la maison A... et remis pour titrage en avril 1929.....	0,92 %
II. — Extrait mou préparé par la maison A... en 1923 et conservé depuis à la Pharmacie centrale des Hôpitaux	1,20 %
III. — Extrait sec préparé spécialement par la maison B... en mai 1929.....	1,30 %
IV. — Extrait mou de la maison C.....	1 %
V. — — — — D.....	1,08 %
VI. — — — — E.....	0,87 %
VII. — — — — F.....	0,62 %

Nous constatons que le chiffre le plus élevé en alcaloïdes totaux est fourni par l'extrait fabriqué en 1923, cependant, au moment de sa préparation, les laboratoires A avaient indiqué un titre de 1 %. Comme pour la teinture, l'augmentation de titre semble donc fonction de l'altération du produit, sans que nous puissions expliquer ce fait.

Pour l'étude physiologique de ces extraits, nous avons

calculé quel poids de chacun d'eux correspondait à 0,50 d'alcaloïdes totaux, et nous avons dissous cette quantité dans suffisamment d'alcool à 70° pour obtenir 1.000 gr. de soluté :

I. —	Maison A (1929) ..	54 gr. 35	alcool à 70c,	Q.S. pour 1.000 gr.
II. —	— A (1923) ..	41 gr. 65	—	—
III. —	— B (1929) ..	38 gr. 46	—	—
IV. —	— C	50 gr. 00	—	—
V. —	— D	46 gr. 30	—	—
VI. —	— E	57 gr. 45	—	—
VII. —	— F	80 gr. 65	—	—

Nous avons ainsi une préparation analogue à la teinture d'Aconit et il nous était alors facile de faire des comparaisons; en effet, depuis plusieurs années, nos expériences ayant surtout porté sur des teintures, nous avons pu établir un moyen facile de nous rendre compte de la valeur de cette préparation.

Or, suivant les indications données au chapitre précédent, en injectant à des cobayes 1 goutte de teinture pour 100 grammes d'animal, ceux-ci ne présentaient aucun symptôme d'intoxication. On pouvait même injecter plusieurs gouttes par 100 grammes sans obtenir de résultat. Nous avons alors déterminé d'une façon précise la D.M.M. des teintures ainsi préparées :

	Titre	D.M.M.
I. — Maison A (1929)	0,92 %	70 unités. Mort
II. — — A (1923)	1,20 %	500 — Survie
III. — — B (1929)	1,30 %	500 — Survie
IV. — — C	1,00 %	700 — Survie
V. — — D	1,08 %	500 — Mort
VI. — — E	0,87 %	500 — Survie
VII. — — F	0,62 %	500 — Survie

On peut donc affirmer qu'aucun de ces extraits livrés au commerce ne pouvait donner un résultat thérapeutique convenable. Même l'extrait récemment préparé par la Maison A dont l'activité 10 fois supérieure à celle des autres pouvait le faire considérer comme un bon extrait

d'Aconit selon le Codex de 1908, ne pouvait être accepté par nous : il y a une trop grande différence entre l'activité de cet extrait ou de tout autre extrait d'Aconit préparé avec autant de soin et celle qu'on lui accorde sur le vu de son titre en alcaloïdes totaux. D'autre part, la diminution d'activité qui semble croître avec le temps, finit par transformer un extrait, légèrement actif, en un produit totalement inactif.

Pour ces raisons, nous considérons l'extrait d'Aconit du Codex de 1908 comme une mauvaise préparation, à supprimer de notre Pharmacopée.

Restaient à déterminer les causes qui interviennent pour rendre ces extraits si peu actifs. Evidemment, on pouvait, sans preuves, incriminer la matière première; mais il était difficile de supposer que le hasard ait justement fait employer par six maisons différentes des Aconits d'activité aussi faible. On pouvait plutôt penser que l'altération se produit au cours de la préparation et surtout pendant l'évaporation, sous l'action de la chaleur.

Par des expériences de laboratoire, nous avons vérifié si nos suppositions étaient fondées : pour cela nous avons préparé une teinture d'Aconit dont le titre était de 0,72 %, le pH 5,3, et la D.M.M. 7 unités, et nous en avons fait des extraits par trois procédés :

1° *Par évaporation dans le vide sulfurique, complètement à froid.* — Sur une assiette, nous avons mis 20 gr. de teinture à évaporer, cette opération terminée, nous avons redissous l'extrait sec dans q.s. d'alcool à 70° pour obtenir 20 grammes de solution; son pH était de 5.

2° *Par distillation au bain-marie et dans le vide.* — Deux kilogrammes de teinture ont été employés, l'évaporation a duré 16 heures, la température de distillation ne dépassant pas 40°. Amené à consistance d'extrait, le produit a été redissous dans q.s. d'alcool à 70° pour obtenir 2 kgrs de solution; le pH était de 5,3.

3° *Par évaporation au bain-marie et à l'air libre.* — Deux kilogrammes de teinture ont été employés, et 21 heures ont été nécessaires pour terminer cette opération; le

résidu a été redissous dans q.s. d'alcool à 70° pour obtenir 2 kgrs de solution; le pH était de 5,1.

Les solutions alcooliques ainsi obtenues pouvaient donc être comparées à la teinture qui avait servi à la préparation des extraits . Le dosage physiologique allait montrer si le facteur « chaleur » seul apportait réellement des modifications à l'activité, en voici les résultats :

	D.M.M.
Extrait préparé dans le vide à froid.....	7 unités
— — — à 40°.....	7 —
— — — à l'air libre à 100°.....	40 —

Ainsi donc, le facteur « chaleur » semble être le principal agent d'hydrolyse de l'Aconitine; c'est lui qui diminue les qualités premières de la drogue : il faut le supprimer et exiger un autre moyen d'évaporation, le vide à froid par exemple, plus coûteux, mais plus sûr.

CONCLUSIONS

Poursuivi pendant trois années, notre plan de travail tracé par M. le Professeur GORIS, a été étudié avec soin dans toutes ses parties; sans doute, il reste bien des points à éclaircir, bien des questions que parviendront à résoudre ceux qui continueront ces passionnantes recherches; cependant, des nombreux essais chimiques et physiologiques que nous avons effectués, nous croyons pouvoir tirer ces conclusions :

1° **Qu'il n'y a aucune concordance entre le dosage chimique et le dosage physiologique** (détermination de la D.M.M.) Cela tient à ce que dans l'Aconit, la proportion entre l'aconitine et les bases voisines : benzoylaconine et aconine, est variable. Certains Aconits, comme ceux des Pyrénées, d'Espagne, de Corse, sont riches en aconitine; d'autres, au contraire, comme ceux qui sont originaires des marais de l'Aisne (Silly-la-Poterie, La Fère-en-Tardenois), sont plus riches en bases dérivées. Le résultat des dosages mesurera donc la toxicité moins grande de l'aconine et de la benzoylaconine par rapport à l'aconitine, et aussi la différence entre l'action physiologique de ces trois alcaloïdes (rappelons, pour mémoire, que l'aconine et la benzoylaconine sont des hypotenseurs, tandis que l'aconitine agit comme hypertenseur).

2° **Qu'il y a un grand intérêt à s'assurer de la valeur de la matière première**, soit par un essai direct (méthode de SQUIBB), soit en préparant une petite quantité de teinture qui sera titrée physiologiquement.

3° **Que la connaissance de l'origine géographique des racines d'Aconit ne peut suffire**; en effet, les conditions climatologiques subissant des changements avec les années influencent, non seulement la teneur totale en alcaloïdes,

mais encore leur proportion respective; l'activité du produit s'en trouve donc modifiée.

4° Que cette différence d'activité n'intervient pas dans le choix des tubercules, florifères ou de remplacement, qui ont qualitativement la même action. La quantité d'alcaloïdes totaux peut varier de l'un à l'autre de ces tubercules, mais l'activité de ces alcaloïdes est toujours comparable, car ils s'y trouvent dans les mêmes proportions.

5° Que la dessiccation faite dans de bonnes conditions n'amène pas de changement dans l'activité de la racine. Il y aura donc concordance d'action entre l'alcoolature et la teinture d'Aconit.

6° Qu'un dosage physiologique très simple (D.M.M.) doit compléter le dosage chimique. Ce dosage pourrait se faire de la façon suivante : la teinture étant titrée à 0,50 % d'alcaloïdes totaux, on en injecterait à un cobaye 1 goutte par 100 grammes d'animal; la mort devrait survenir dans les 6 heures. A cet effet, la teinture diluée dans quelques centimètres cubes d'eau physiologique serait injectée sous la peau du ventre. Dans ce cas, la D.M.M. correspondrait environ à 9-10 unités, c'est-à-dire à une teinture encore suffisamment active. Si le cobaye ne mourait pas, on augmenterait la dose légèrement, de 1/4 de goutte par exemple (en employant des solutions diluées de teinture dans l'eau physiologique). Enfin, si la mort ne se produisait qu'avec une quantité de teinture s'écartant trop de la dose que nous avons fixée, au delà de 15 unités par exemple, la préparation serait à rejeter.

7° Que la teinture d'Aconit ayant une acidité correspondant à un pH de 5, se conserve relativement bien pendant un an. Toutefois, nous croyons devoir recommander au pharmacien le renouvellement annuel de cette préparation.

8° Que l'alcoolature de racines d'Aconit du Codex de 1884 devrait être dosée à 1 % d'alcaloïdes totaux, dont la

D.M.M. serait de 1 goutte par fraction de 200 grammes de cobaye.

9° Que les alcaloïdes sont identiques dans les alcoolatures de feuilles ou de racines, et dans les teintures, si les échantillons sont de même provenance.

10° Que le titre de l'alcoolature de feuilles étant manifestement trop bas, le Codex devrait le porter à 0,20 ou 0,25 ‰. Tous les fabricants sont d'ailleurs d'accord avec nous pour trouver normal un titre voisin de 0,30 ‰ qui, supprimant la dilution, rendrait à cette préparation ses caractères organoleptiques.

11° Que l'extrait d'Aconit du Codex de 1908 est une forme pharmaceutique à supprimer. Si l'on voulait conserver une forme extractive titrant 1 ‰ d'alcaloïdes totaux et ayant une activité réelle (D.M.M.), il faudrait exiger l'évaporation dans le vide, à froid, puisque la température et le temps de chauffe dédoublant en partie l'Aconitine la transforment partiellement en produits inactifs.

En réalité, la préparation d'Aconit, dont le médecin peut attendre un résultat thérapeutique certain, c'est la *teinture*, mais celle-ci devra toujours être dosée physiologiquement, sans négliger cependant le titrage chimique.

Vu, bon à imprimer :
Le Président de la Thèse,
A. GORIS.

Vu :
Le Doyen de la Faculté,
RADAIS.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLETY.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ANSELMINO. — *Chem. and Drugg.*, 1910, 75, 11, p. 892 in HASKELL et ZIRKLE.
- ASTRUC, CANALS (E.), BORDIER (R.). — Sur le dosage des alcaloïdes dans l'extrait d'aconit. *Journ. Pharm. Chim.* (7), 1922, 25, p. 161-164.
- AUENMULLER. — Zusammenstellung der Resultate der bisher im Berner Pharmazeutischen Institut ausgeführten Arbeiten. *Schweiz. Apoth.-Zeit.* 1920, 58, p. 433-436.
- BERNEGAT (H.). — Some laboratory notes on assay work. *Am. Journ. Pharm.*, 1909, 81, p. 122-125.
- BORDIER (R.). — Dosages des principes actifs dans les drogues servant à obtenir quelques extraits alcooliques (avec l'alcool à 70c). Etude spéciale de l'Aconit. *Th. Doct. Pharm.*, Montpellier, 1922.
- BURMANN (J.). — Sur le développement des principes actifs de quelques plantes médicinales. *Journ. suisse Chim. et Pharm.*, 1912, 50, p. 2-4.
- Influence de la température sur le développement des principes actifs de quelques plantes médicinales. *Journ. suisse Chim. et Pharm.*, 1913, 51, p. 117-118.
- CAESAR et LORETZ. — *Geschäfts-Bericht*, septembre 1905, 101-102.
- CASH (J.B.) et DUNSTAN (W.R.). — The pharmacology of aconitine, diacetylaconine, benzaconine and aconine considered in relation to their chemical constitution. *Philos. Transact.*, 1898, 190 B, p. 239-293.
- CHEVALIER (J.). — Note sur un Aconit. *Bull. Soc. Thér.*, 1905, (4), 10, p. 355.
- DOHME. — The assay of Aconite. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1921, 10, p. 428-430 et *Pharm. Era*, 1921, 54, p. 197.
- DRAGENDORFF (G.). — Die Chemische Werthbestimmung einiger starkwirkender Drogen und der aus ihnen angefertigten. Arzneimittelungen, St. Petersburg (126 p.), 1874, trad. J. Morel, Gand, Paris, 1876, p. 3-13.
- DUNSTAN et CARR. — *Journ. Chem. Soc.*, 1893, 63, p. 991; 1894, 65, p. 176; 1894, 65, p. 290.

- DUNSTAN et PASSMORE. — *Journ. Chem. Soc.*, 1892, **61**, p. 395-404.
- DUQUESNEL. — De l'Aconitine cristallisée. *Journ. Pharm. Chim.*, 1871 (4), **14**, p. 94-98.
- EGALLE. — Dosage de l'Aconitine dans les préparations d'Aconit. *Journ. Pharm. Chim.*, (6), 1901, **14**, p. 97-102.
- EVAN'S. — *Analytical notes*, 1909, 6.
- FAMULENER (L.W) and LYONS (A.B.). — Relative strength of the various preparations of digitalis and kindred drugs as shown by experiments on frogs. *Proceed. Am. Pharm. Assoc.*, 1902, **50**, p. 445-425.
- FORD (J.C.), FORD (C.P.S.), and WINE (J.E.). — A comparison of the Guinea-pig and cat methods for the physiological standardization of Aconite preparations. *Am. Journ. Pharm.*, 1915, **87**, p. 489-492.
- FREUD et BECK. — Zur Kenntniss des Aconitins. *Ber. Deuts. Chem. Gesel.*, 1894, **27**, p. 433.
- FROMME in CAESAR LORETZ. — *Geschäfts-Bericht*.
- GANE et WEBSTER. — *Drugs and topics*, 1909, **24**, p. 340 in HASKELL et ZIRKLE, *loc. cit.*
- GITHENS and VANDERKLEED. — Physiologic standardization of cardiac stimulants and depressants. *Proceed. Am. Pharm. Assoc.*, 1910, **58**, p. 919-922.
- A. GORIS (A.) et LACHAISE (P.-L.). — Sur l'action phylactique de la brucine vis-à-vis de la strychnine. *C. R. Ac. Sc.*, 1927, **184**, p. 1091.
- GORIS (A.) et MÉTIN (M.). — Variations de la teneur en alcaloïdes dans les racines d'Aconit. *Bull. Sc. Pharm.*, 1924, **34**, p. 330-335.
- Action préventive de l'Anthrone, vis-à-vis de l'Aconitine. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, **180**, p. 1132-1134.
- Sur la composition chimique d'un hybride d'Aconit. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, **180**, p. 1282-1284.
- Altération des solutions d'aconitine au cours de leur vieillissement. *C. R. Ac. Sc.*, 1925, **180**, p. 1443-1445.
- HAGER. — Zur Kenntniss der Tubera Aconiti und des daraus bereiteten Extrakts. *Pharm. Centralh.*, 1863, **4**, p. 1003-1007.
- HASKELL (Ch. C.). — Physiological drug testing and the Pharmacopoeia. *Journ. Am. Pharm. Assoc.* 1912, **1**, p. 696-701.
- The quality of tincture of aconite. *Am. Drugg. and Pharm. Record*, 1916, **64**, p. 129.
- Seasonal variation in the resistance of guinea-pigs to poisoning by tincture of aconite. *Am. Journ. Pharm.*, 1916, **88**, p. 243-246.
- HASKELL (Ch. C.) and THOMAS (H.B.). — A comparison of results secured by the use of the guinea-pigs and cat methods for

- the assay of tincture of aconite. *Am. Journ. Pharm.*, 1916, 88, p. 3-7.
- HASKELL (Ch. C.) et ZIRKLE (H.W.). — A comparison of the results secured by the use of chemical and physiological assay methods for tincture of aconite. *Am. Journ. Pharm.*, 1915, 87, p. 537-540.
- HOLMES. — Report on the cultivation of *Aconitum Napellus*. *Pharm. Journ.*, 1888 (3), 19, p. 213-216.
- JAUREGUI (M.G.). — The biological assay of Aconite. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1927, 16, p. 1045-1052.
- KELLER. — Mitteilungen über die Wertbestimmung von Drogen. *Schweiz. Wochensch. f. Chem. und Pharm.*, 1894, 32, p. 68.
- LABORDE. — Sur les propriétés pharmaco-dynamiques de l'Aconitine des Pyrénées. *Journ. Thér.*, 1876, 3, p. 267-268.
- LOMBA (L.). — Les poissons, réactif biologique très sensible des alcaloïdes. *Thèse Doct. Méd.*, Paris, 1922.
- LYONS (A.B.). — *Manual of Pharmaceutical assays*. Detroit, 1886, p. 52.
- The aconite assay of U.S.P. VIII. *Amer. Drugg. and Pharm. Record*, 1908, 52, p. 89.
- MANDELIN. — Zur Lösung der Aconitinfrage. *Archiv der Pharm.* (3), 1885, 23, p. 97-102, 129-141, 161-177.
- MANSFIELD (W.). — Aconite stem crowned and bud-crowned. *Am. Journ. Pharm.*, 1911, 83, p. 441.
- MERCK (E.). — Dosierung der Aconitine, d'après *Jahresber. der Pharmazie*, 1918, 53, p. 152.
- MÉTIN (M.). — Les variations de la teneur alcaloïdique de l'*Aconitum Napellus* L. *Thèse Doct. Un. (Pharm.)*, Paris, 1925, p. 61-64.
- MUNCH (J.C.) et GITTINGER (G.S.). — Bio-assay of Aconite and its preparations. I. Lethal dose of Aconitine to rats. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1929, 18, p. 17-24.
- MUNCH (J.C.). et GRANTHAM (R.I.). — 3. The comparative toxicity of tincture and fluidextract of Aconite to guinea-pigs and rats. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1929, 18, p. 993-995.
- PANCHAUD (A.). — Alkaloïdbestimmung in Drogen. *Schweiz. Wochen. für Chem. und Pharm.*, 1903, 41, p. 523-527 et 585-588.
- PEARSON (W.A.). — The Pharmacopoeia from the view point of an analytical worker. *Am. Journ. Pharm.*, 1908, 80, p. 75.
- RICHAUD. — Sur la teneur en aconitine de quelques échantillons d'alcoolature de feuilles d'aconit. *Journ. Pharm. Chim.* (7), 23, 1921, p. 15.
- ROBINSON. — *Arch. int. Med.*, 1915, 15, p. 5 in HASKELL et ZIRKLE.
- ROTH. — The physiological assay of aconite. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1913, 2, p. 705-712.

- ROWE. — The bio assay of Aconite. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1925, **14**, p. 968-972.
- SCHULZE et BERGER (G.). — Zur Kenntniss der Aconitalkaloide. Ein neues Alkaloid aus *Aconitum Napellus*. *Arch. des Pharm.*, 1924, **262**, p. 553-563.
- SCOVILLE (W.). — Some comments on the alkaloidal assay methods, of U.S.P. *Proceed. Am. Pharm. Assoc.*, 1910, **58**, p. 820.
- . — On the permanance of alkaloidal fluidextracts and tinctures. *Proc. Amer. Pharm. Ass.*, 1910, **53**, p. 874-879.
- SQUIBB. — Ephemeris, 1882, **1**, p. 126.
- SQUIRE. — On the proper time for collecting Aconite root. *Pharm. Journ.* (3), 1889, **19**, p. 645-647 and p. 652-654.
- STEVENS. — A comparison of the chemical and physiological method of assay. *Pharm. Arch.*, 1903, **6**, 50-55.
- . — The assay of Aconite. *Pharm. Journ.*, (4), 1911, **33**, p. 33.
- SWANSON (Edw. E.). — The standardization and stabilization of aconite preparations. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1924, **13**, p. 1108-1112.
- SWANSON (Edw. E.) et HARGREAVES. — The stabilization and standardization of aconite preparations. *Journ. Amer. Pharm. Assoc.*, 1927, **16**, p. 296-301.
- SWANSON (Edw. E.) et WALTERS. — The standardization and stabilization of aconite preparations. *Journ. Am. Pharm. Assoc.*, 1923, **12**, p. 957-963.
- TAYLOR. — Aconite. *Journ. of. Indus. and Engin. Chem.*, 1909, **1**, p. 549-567.
- WENTRUP. — Ueber den Alkaloidgehalt der Mutter- und Tochter knollen von *Aconitum Napellus*. *Journ. der Pharm. von Els. Lothr.*, 1906, **33**, p. 180-183.
- WOOD. — Report of Committee on physiological assay. *Proceed. Am. Pharm. Assoc.*, 1910, **58**, p. 940-941.
- WRIGHT (Alder). — Third report on the chemistry of the Aconite alkaloïds. *Pharm. Journ. and Transac.* (3), 1878, **8**, p. 164-172.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	9
PREMIÈRE PARTIE	
CHAPITRE I. — <i>Essais chimiques de l'Aconit et de ses préparations</i>	13
CHAPITRE II. — <i>Essais physiologiques de l'Aconit..</i>	29
CHAPITRE III. — <i>Altérations des préparations d'Aconit</i>	47
DEUXIÈME PARTIE	
CHAPITRE I. — <i>Protocole expérimental</i>	61
CHAPITRE II. — <i>Racine d'Aconit</i>	67
CHAPITRE III. — <i>Teinture d'Aconit</i>	77
CHAPITRE IV. — <i>Alcoolature de feuilles d'Aconit</i>	85
CHAPITRE V. — <i>Extrait d'Aconit</i>	89
CONCLUSIONS	95
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	99

Saint-Cloud. — Imp. GIRAULT, 3, place de l'Eglise. — Tél. 369
